

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE MEDICINA**



**TESIS DOCTORAL**

**Ecografía de las glándulas salivares en el síndrome de  
Sjögren primario**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Juan Carlos Nieto González**

DIRECTORES

**Esperanza Naredo Sánchez**  
**Francisco Javier López Longo**  
**Luis Collado Yurrita**

**Madrid, 2018**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**



**UNIVERSIDAD  
COMPLUTENSE  
MADRID**

**TESIS DOCTORAL**

**Ecografía de las glándulas salivares en el  
síndrome de Sjögren primario**

**Juan Carlos Nieto González  
Servicio de Reumatología  
Hospital General Universitario Gregorio Marañón**

**Directores de tesis  
Dra. Esperanza Naredo Sánchez  
Dr. Francisco Javier López Longo  
Dr. Luis Collado Yurrita**

**Madrid 2017**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**Departamento de medicina**



**UNIVERSIDAD  
COMPLUTENSE  
MADRID**

**TESIS DOCTORAL**

**Ecografía de las glándulas salivares en el  
síndrome de Sjögren primario**

**Juan Carlos Nieto González**

**Directores de tesis**

**Dra. Esperanza Naredo Sánchez**

**Dr. Francisco Javier López Longo**

**Dr. Luis Collado Yurrita**

**Madrid 2017**

## **Agradecimientos**

La elaboración de esta tesis ha sido un reto y una experiencia que me ha aportado mucho a nivel profesional y personal que no habría sido posible sin el apoyo y ayuda de mi familia y mis compañeros de trabajo.

Quiero agradecer a mi madre Virginia y a mi padre Juan Carlos, por el apoyo y ejemplo que siempre han sido para mí.

Quiero dar las gracias también a mis directores de tesis, y a todos los componentes del Servicio de Reumatología del Hospital G.U. Gregorio Marañón, por vuestra ayuda y paciencia.

Y por supuesto a Cris, sin ti no habría llegado a tierra.

## ÍNDICE

## Índice

1. Resumen	páginas 6-8
2. Summary	Páginas 9-18
2. Listado de abreviaturas	página 19-20
3. Introducción	página 21-40
4. Hipótesis	página 41-42
5. Objetivos	página 41-42
6. Material y métodos	página 43-56
7. Estadística	página 54-56
8. Resultados	página 57-72
9. Discusión	página 73-83
10. Conclusiones	página 84-85
11. Referencias	páginas 86-95
12. Anexos	páginas 96-104

## **RESUMEN**

## **Resumen**

La ecografía es una técnica de imagen útil en la evaluación morfológica de las glándulas salivales (GS) y se ha utilizado en el diagnóstico del Síndrome de Sjögren primario (SSp). Se ha propuesto incluir la ecografía de GS en los criterios de clasificación del SSp, pero aún son controvertidas su reproducibilidad, su capacidad diagnóstica y su valor en el seguimiento.

## **Objetivos**

1. Describir el aspecto ecográfico normal y patológico en el SSp de las GS; 2. Desarrollar y validar una escala semicuantitativa de graduación de la alteración ecográfica de las GS en el SSp; 3. Evaluar la asociación de la alteración ecográfica de las GS en el SSp y su graduación con las características clínicas e inmunológicas de una muestra de pacientes con SSp.

## **Material y métodos**

Se evaluaron las GS de controles sanos y pacientes con SSp y se describieron los hallazgos ecográficos. Se desarrolló una escala ecográfica de graduación semicuantitativa y se evaluó la fiabilidad intra-



e inter-observador de la escala. Se aplicó la escala a una muestra de pacientes con SSp y se correlacionaron los hallazgos ecográficos con los datos demográficos, clínicos y de laboratorio.

## **Resultados**

Se desarrolló una escala ecográfica semicuantitativa de 4 grados (0-3). Los grados I y II se consideraron normales y los grados II y III patológicos. La fiabilidad intra-observador fue excelente ( $k$  0,82-0,87) y la inter-observador de buena a excelente ( $k$  0,71-0,81). Las alteraciones ecográficas se asociaron con la positividad de autoanticuerpos ( $p < 0,01$ ), la tumefacción parotídea ( $p$  0,012) y el tiempo de evolución de la enfermedad ( $p$  0,021). Los pacientes con todos los autoanticuerpos positivos tuvieron una ecografía patológica en el 78,1% (25 de 36 pacientes) mientras que todos los pacientes sin autoanticuerpos tuvieron ecografía normal (13 pacientes).

## **Conclusiones**

La fiabilidad inter- e intra-observador de la escala semicuantitativa de graduación fue fiable. Las alteraciones ecográficas se asociaron con la positividad de autoanticuerpos en nuestra muestra de pacientes con SSp.

## **SUMMARY**

## **Salivary gland ultrasound in primary Sjögren syndrome**

### **Background**

Primary Sjögren's syndrome (pSS) is a systemic autoimmune disease characterized by mouth and eyes dryness (xerostomía and xerophthalmia)<sup>1</sup>. Classification criteria of pSS includes subjective and objective dryness of mouth and eyes, and also objective autoimmune involvement<sup>2-4</sup>. T-cell infiltration of exocrine glands confirmed by minor salivary gland biopsy (MSG) and/or positive autoautoimmunity are mandatory to classified a patient as having pSS in the last published classification criteria<sup>3,4</sup>.

Salivary gland ultrasound (SGU) has demonstrated to be useful and reliable to assess major salivary glands<sup>5, 6</sup>. Further, SGU seems to be as sensitive as sialography and salivary gland scintigraphy<sup>7</sup>, but more specific in the assessment of SG in pSS<sup>8</sup>. Moreover, SGU has been proposed to be included in the classification criteria for pSS<sup>9</sup> additional to or instead of sialography and SG scintigraphy <sup>10</sup>. Some authors suggested a relation between a pathological SGU and a positive MSG biopsy<sup>11</sup>, and other authors proposed to exchange salivary gland biopsy with SGU, but this change means a significant reduction in sensitivity,

from 77.9% to 68.8%<sup>12</sup>. Even more interesting than its high specificity and its diagnosing usefulness is that SGU could be associated with more extra-glandular involvement and higher risk of lymphoma<sup>13</sup>. Some studies also have associated pSS findings in SGU with positive autoantibodies such as anti-SSA/SSB antibodies, rheumatoid factor (RF) and antinuclear antibodies (ANA)<sup>13-17</sup>. The main objective of our study is to describe the relation between pSS SGU findings with clinical data, extra-glandular involvement and immunological data in our pSS cohort.

## **Methods**

We included 100 patients with pSS fulfilling the 1993 classification criteria<sup>2</sup> selected from the database of the rheumatology department of H.G.U. Gregorio Marañón, Madrid, Spain. We performed, blinded to clinical and immunological data, a B-mode SGU assessment and scored every submandibular and parotid glands of all patients. The US assessment was performed by an experienced rheumatologist using a General Electric E9 with a linear probe (6-15 MHz) on B-mode. Submandibular and parotid glands were assessed in longitudinal scan and parotid glands also in tranverse scan with a frequency of 7.5 MHz and gain 35 db, with the patient lying on the bed and with the head extended. To score, we used a simple semiquantitative score ranged

from 0 to 3, previously published<sup>6</sup> and we saved one representative image of every SG. We considered grades 0 and 1 as normal and grades 2 and 3 as typical pattern for pSS or pathological.

Demographics (age, gender, age at disease onset and disease duration), clinical data (glandular and extra-glandular involvement, parotid swelling and lymphoma) and immunological data (antinuclear antibodies (ANA), rheumatoid factor (RF), anti-SSA/Ro and anti-SSB/La antibodies) were collected from clinical reports. Extra-glandular involvement was considered as follows; articular (arthralgia or arthritis), renal (nephrotic or nephritic syndrome or renal tubular acidosis), cutaneous (malar rash, photosensitivity and cutaneous lupus), neurological (cerebrovascular stroke or convulsion), hematological (lymphopenia, thrombocytopenia or neutropenia) and pulmonary (interstitial pneumonitis or serositis). MSG biopsies were not available at our center.

We compared clinical, including extra-glandular involvement, and immunological characteristics between patients with pathological SGU and patients with normal SGU. We classified pSS patients according to autoimmunity in 3 exclusionary groups. Patients with positivity to all autoantibodies simultaneously or sequentially (ANA and RF and anti-SSA or anti-SSB antibodies) were named *immuno-positives*. Patients

without autoantibodies (ANA and RF and anti-SSA or anti-SSB negatives) were named *immuno-negatives*. The rest of the patients, with any positive auto-antibody but not all together, were named *simple positives*. We compared these three groups in relation with normal or pathological SGU.

All patients fulfilled the 1993 classification criteria. We applied the AECG 2002 and ACR 2012 classification criteria to our cohort. We compared patients who fulfill one of the classification criteria (2002 or 2012 criteria) with patients who do not fulfill any classification criteria in relation with normal or pathological SGU. The study was approved by our local ethics committee. All patients accepted to participate and signed an informed consent before the SGU examination.

### Statistical Analysis

Quantitative measures were expressed in mean, range and standard deviation (SD). Qualitative measures were expressed by percentages. Comparison between groups were analyzed by 't' student when necessary. Statistical differences were considered significant when  $p$  value was less than 0.05.

## Results

From 100 patients included in the study 7 patients were excluded because they had secondary SS; 5 patients had also systemic lupus erythematosus, 1 patient had rheumatoid arthritis and 1 patient had polymyositis. Table 1 shows demographic data of the 93 patients finally included. Mean age at disease onset and mean disease duration was 49.5 and 12.5 years old respectively, and 86 patients were female (92.5%).

From all included patients, 32 (34.5%) had typical pSS pattern in SGU. This frequency was increased to 52.5% (31 patients) when we analyzed only patients who fulfilled the 2002 and/or 2012 classification criteria (59 patients). Patients with typical pSS SGU were comparable to patients with normal SGU in demographics and systemic involvement (table 1). Differences between both groups were found in the frequency of parotid swelling and disease duration ( $p < 0.05$ ), which were both higher in the typical pSS SGU group (table 1).

The immuno-positive group had a significant higher frequency of pathologic SGU, 25 of 32 patients (78.1%). On the other hand, none of the immuno-negative patients (13 patients) had a pathologic SGU. The positivity of any of the auto-antibodies was related to a higher frequency of pathologic SGU, 7 of 44 patients (21.9%). Patients who fulfilled 2002 and/or 2012 classification criteria and patients who did not fulfill any

of them were similar between each others. There were no differences in extra-glandular involvement or lymphoma between patients with pathological SGU and patients with normal SGU.

Table 1. Demographic data of 93 pSS patients and comparison between patients with and without SGU pSS pattern.

	<b>Total</b>	<b>Pathologic al SGU</b>	<b>Normal SGU</b>	<b><i>p</i></b>
	<b><i>n</i> = 93</b>	<b><i>n</i> = 32</b>	<b><i>n</i> = 61</b>	
Age at disease onset (mean)	49.5	46.6	51	.136
Female <i>n</i> (%)	86 (92.5)	29 (90.6)	57 (93.4)	.625
<b>Disease duration (mean)</b>	12.5	14.6	11.1	<b>.021</b>
Elevated ESR <i>n</i> (%)	47 (50.5)	16 (50.0)	31 (50.8)	.940
<b>Fulfill classification criteria, AECG 2002/ACR 2012 (%)</b>	59 (63.44)	31 (96.87)	28 (45.9)	<b>&lt;.001</b>
Lymphoma (%)	3 (3.2)	1 (3.1)	2 (3.3)	.968
Autimmune tiroiditis (%)	27 (29)	7 (21.9)	20 (32.8)	.271
Extra-glandular involvement (%)	76 (81.7%)	28 (87.5)	48 (78.7)	.296
Articular involvement (%)	57 (61.3)	21 (65.6)	36 (59.0)	.534
<b>Parotid swelling (%)</b>	12 (12.9)	8 (25.0)	4 (6.6)	<b>.012</b>

pSS: Primary Sjögren syndrome; SGU: Salivary gland ultrasound; ERS: Erythrocyte sedimentation rate.



## Discussion

Our study showed a relation between positive autoantibodies and pathological SGU in pSS patients. Our semiquantitative score was similar to other previously reported scores<sup>8,13,16-18</sup> and it has demonstrated to be reliable<sup>6</sup>. Extra-glandular involvement and lymphoma could be a life-threatening complication of pSS and could rise the mortality. Typical pSS SGU has been associated with extra-glandular involvement and higher risk of lymphoma in some studies<sup>13,14</sup>. However, our study did not shown relation between pathological SGU and extra-glandular involvement or lymphoma. This difference with other published studies could be related to a low frequency of lymphoma (3%) in our cohort. On the other hand, parotid swelling was much more common in patients with pathological SGU. More studies focusing on the relation between SGU alterations and extra-glandular involvement are needed to clarify this important issue.

Patients with pathological SGU have a strong relation with positive autoimmunity. Moreover, a higher number of positive autoantibodies was related to having more probability of a pathological SGU in our cohort (table 2). Relation between pathological SGU and positive autoimmunity has been shown in previous studies and is strongly supported by our results<sup>13-17</sup>. None of the patients with negative

autoimmunity had a pathological SGU, confirming the relation between autoimmunity and pathological SGU.

Recently, some authors suggested that SGU could help to stratify patients with pSS, based on the promising data published relating a pathological SGU with extra-glandular involvement, higher risk of lymphoma, positive autoimmunity and positive MSG biopsies<sup>19</sup>. Our study increases the data supporting the relation between pathological SGU with autoimmunity.

Some limitations of our study should be noted. The transverse and observational design of our study limited the data, but the majority was available. Also the older and less stringent classification criteria for pSS used in our cohort could be a limitation due to less homogeneity of our cohort. Maybe this possible dishomogeneity is responsible of the small percentage (34.5%) of patients with pathological pSS SGU in our cohort, being greater than 50% in most of other studies<sup>13</sup>. In fact, when we analyzed only patients who fulfilled the 2002 and/or 2012 classification criteria<sup>3-4</sup>, the percentage of patients with a pathological SGU increased to 52.5%.

Further, the lack of MSG biopsies is a major limitation of our study. In order to assess if patients who fulfilled the classification criteria due to positive autoantibodies and patients who did not fulfill any

classification criteria were different, we compared both groups. There were no differences between both groups, suggesting that the lack of biopsy results had no major impact in our results. On the other hand, this situation allowed us to evaluate the usefulness of SGU in patients diagnosed with pSS and negative SGU, remarking that these patients had always a normal SGU.

### **Conclusions**

Pathological SGU relates with positive autoantibodies, parotid swelling and longer disease duration in our cohort. Negative autoimmunity was related with normal SGU.

## **LISTADO DE ABREVIATURAS**

Enfermedades Reumáticas Autoinmunes Sistémicas: ERAS

Hospital General Universitario Gregorio Marañón: HGUGM

*Pulse Repetition Frequency*: PRF

Síndrome de Sjögren: SS

Síndrome de Sjögren primario: SSp

Lupus Eritematoso Sistémico: LES

Artritis Reumatoide: AR

Esclerosis sistémica cutánea: ESC

Poli-dermatomiositis: PDM

Linfomas no Hodking: LNH

Anticuerpos antinucleares: ANA

Inmunofluorescencia indirecta: IFI

*Enzymatic linked immunoassay*: ELISA

Factor reumatoide: FR

Kilodaltons: kDa

Tripartite motif-containing protein 21: TRIM21

*American College of Rheumatology*: ACR

*American European Collaborative Group*: AECG

Herzios: Hz

## **INTRODUCCIÓN**

## INTRODUCCIÓN

El síndrome de Sjögren primario (SSp) es una enfermedad autoinmune sistémica y crónica que se caracteriza por el desarrollo de una exocrinopatía secundaria a la infiltración monocitaria de las glándulas<sup>1</sup>. En dichos infiltrados predominan los linfocitos Th2 CD4+ y la desregulación de los linfocitos B determina el aumento del número de células plasmáticas en las glándulas y la formación de autoanticuerpos<sup>2-3</sup>. El SSp fue descrito por primera vez en 1892 por Mikulicz en forma de caso clínico, y publicado en forma de tesis por Henri Sjögren en 1933<sup>4-5</sup>. La prevalencia del SSp es del 0,1-4,6% de la población general y la incidencia de 4-5 casos/100.000 habitantes, comenzando en torno a la 5ª década de la vida y con un predominio femenino muy marcado, 13:1<sup>1, 6-7</sup>.

### **Manifestaciones clínicas y pruebas de imagen en el SSp**

Las principales manifestaciones clínicas del SSp se producen por la infiltración linfocitaria de las glándulas salivales y lacrimales, pero también pueden afectarse las glándulas sudoríparas, genitales y bronquiales. La xerostomía (sequedad bucal) y la xeroftalmía (sequedad ocular) están presentes en más del 95% de los pacientes, y junto con la

fatiga, en más del 70% de los pacientes, son los síntomas más frecuentes  
1, 6, 8.

La xerostomía y la xeroftalmía son síntomas inespecíficos que pueden aparecer en procesos fisiológicos como la menopausia; deberse a efectos adversos de fármacos como los diuréticos o los antidepresivos; ser manifestaciones de infecciones por herpes-virus, virus de la hepatitis C <sup>9</sup>, u otros micro-organismos; o aparecer en el contexto de otras enfermedades reumáticas autoinmunes sistémicas (ERAS) como el Lupus Eritematoso Sistémico (LES), la Artritis Reumatoide (AR), la Esclerosis sistémica (ESC) o la Poli-Dermatomiositis (PDM).

La xeroftalmía se puede estudiar mediante pruebas objetivas de sequedad ocular, como son el test de Schirmer y la tinción corneal (imagen 1) <sup>10</sup>. El test de Schirmer consiste en introducir una tira de papel absorbente entre el ojo y el párpado inferior del paciente, sin aplicar un anestésico local, y medir la distancia de humedad de la tira a los 5 minutos. Si el resultado es menor o igual a 5 mm se considera que existe sequedad ocular.



La tinción corneal con rosa de bengala, fluoresceína o verde de lisamina, nos permite demostrar úlceras corneales y otras lesiones producidas por la sequedad ocular. La fluoresceína, que demuestra irregularidades corneales, y la tinción con rosa de bengala, que se une a células desvitalizadas, son las tinciones más específicas. La ventaja de la tinción verde de lisamina es su menor toxicidad con respecto al rosa de bengala.

**Imagen 1.** Tinción de Schirmer y tinción rosa de bengala. Google imágenes, <http://www.basesmedicina.cl>



**Test Schirmer**



**Rosa de Bengala**

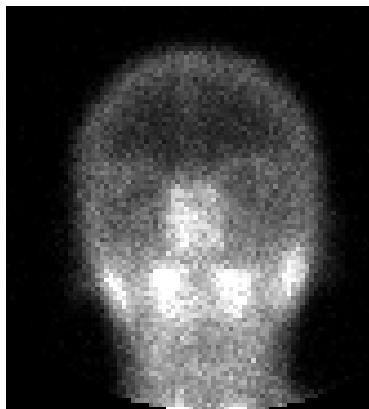
La xerostomía se puede estudiar mediante pruebas que evalúan la función (la medición del flujo salival no estimulado y la gammagrafía salival) o la morfología de las glándulas salivales (sialografía, tomografía computarizada, resonancia magnética y ecografía). Los criterios de

clasificación solo incluyen la medición del flujo salival no estimulado, la gammagrafía salival y la sialografía <sup>10-13</sup>.

La medición del flujo salival consiste en medir la cantidad de saliva que el paciente produce sin estimulación en un periodo de 15 minutos, recogiendo la saliva en un vaso medidor. Una cantidad menor a 1,5 ml se considera indicativa de sequedad bucal.

La gammagrafía salival consiste en introducir un contraste intravenoso, generalmente tecnecio<sup>99</sup>, y medir la captación y la eliminación del contraste por las glándulas salivales, tanto espontánea como estimulada. La medición se realiza a lo largo de 1-2 horas, dependiendo del protocolo utilizado (imagen 2) <sup>14-16</sup>. Los resultados se gradúan en 4 grados, siendo el grado I normal y el grado IV el más patológico. Los grados III y IV son sugestivos de SSp <sup>12-13</sup>.

**Imagen 2. Gammagrafía grado III en paciente con SSp del HGUGM.**



La sialografía salival es un método invasivo para demostrar lesiones parenquimatosas glandulares que consiste en canalizar el conducto salival e introducir un contraste, demostrando las lesiones parenquimatosas mediante una radiografía simple.

La tomografía computarizada y la resonancia magnética (imagen 3) muestran el conducto salival y los acinos salivales con sus posibles alteraciones estructurales <sup>17</sup>. La ecografía permite evaluar la ecoestructura glandular, se comentará en un apartado aparte más adelante. La sensibilidad de estas pruebas es aceptable, en torno al 80%, pero son inespecíficas para el diagnóstico de SSp <sup>10</sup>.

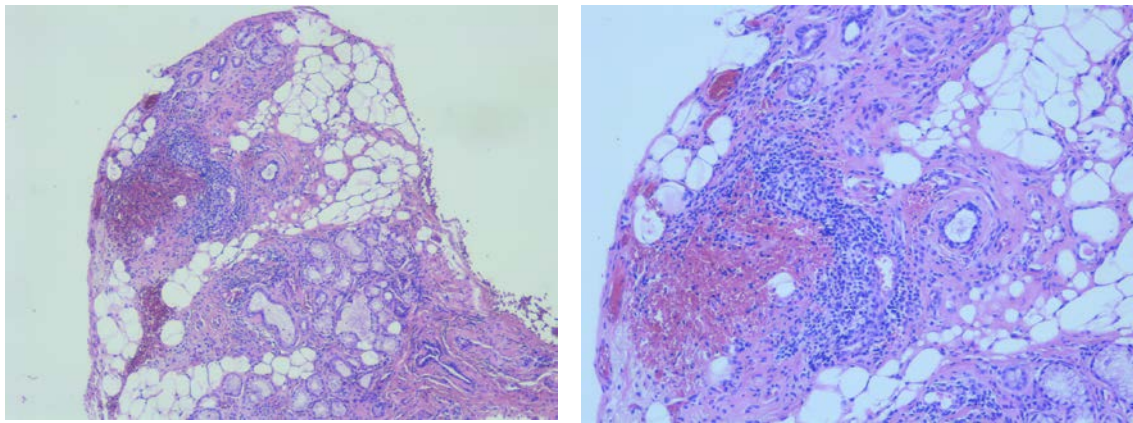
Además de los síntomas glandulares, los pacientes con SSp pueden presentar manifestaciones sistémicas o extra-glandulares en aproximadamente un 75% de los casos <sup>1</sup>. Las artralgias o la artritis son la afectación extra-glandular más frecuente, en torno al 50-60% de los pacientes, seguida de la afectación cutánea (27-50%), del fenómeno de Raynaud (13-44%) y de la afectación pulmonar (11,4%) (imagen 4), esta última asintomática en la mayoría de los casos <sup>1</sup>. La afectación renal, la del sistema nervioso central o periférico, y la vasculitis aparecen en el 5-10% de los pacientes <sup>1</sup>.

**Imagen 4. Neumonitis intersticial en imagen de TAC. Elsevier 2011, Google imágenes.**



### **Hallazgos histológicos en el SSp**

La biopsia de las glándulas salivales menores de pacientes con SSp presenta un infiltrado linfocitario difuso y en ocasiones la formación de folículos linfoides. El folículo linfoide se define como el cúmulo de 50 o más linfocitos por área de 4 mm<sup>2</sup>. La biopsia se gradúa de forma semicuantitativa según la clasificación de Chisholm-Mason en 5 grados (tabla 1, imagen 5) <sup>18</sup>, tomándose como positivos para los criterios de clasificación aquellos grados que presentan al menos 1 folículo linfoide por campo (grados III y IV) <sup>12-13</sup>. La presencia de los folículos o focos linfoides no es específica de SSp ya que pueden aparecer hasta en el 15% de la población sana y aumenta la frecuencia con la edad. La fiabilidad inter-observador de la escala de Chisholm-Mason es buena cuando las muestras se clasifican como típicas de SSp (grados III y IV) y normales (Grados 0, I y II), empeorando considerablemente en la graduación no dicotómica <sup>19</sup>.



**Imagen 5. Biopsia de glándula salival menor con un cúmulo de linfocitos (fóliculo linfoide), metaplasia grasa y fibrosis glandular en diferentes aumentos. Cortesía del Dr. Mónaco Velásquez, HGUGM.**

**Tabla 1. Escala semicuantitativa de graduación de biopsia de glándula salival menor Chisholm-Mason, 1968 <sup>18</sup>.**

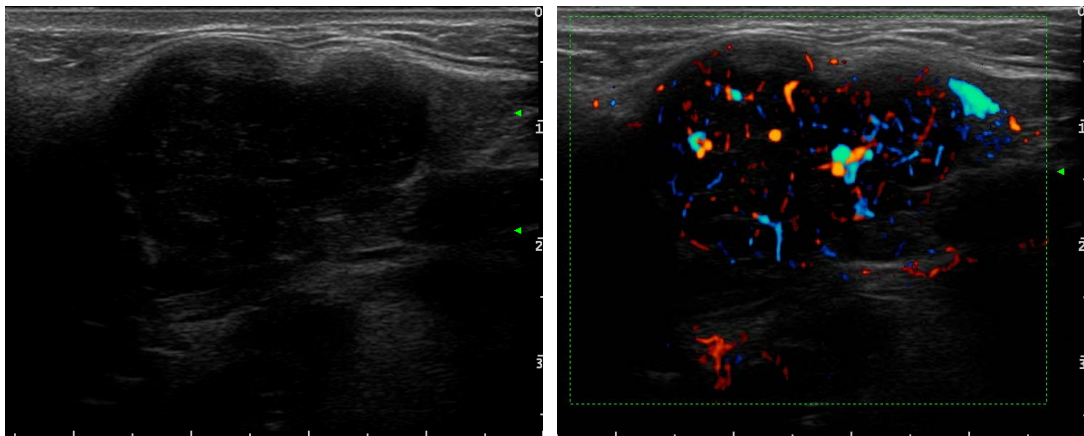
Grados	Cúmulos de linfocitos/ 4 mm <sup>2</sup>
0	Ninguno
1	Infiltrado linfocitario escaso
2	Infiltrado linfocitario moderado
3	1 folículo linfoide
4	2 o más folículos linfoides

### **Pronóstico y complicaciones en el SSp**

El pronóstico a largo plazo de los pacientes con SSp por lo general es bueno, con un mayor o menor grado de sequedad glandular. Las manifestaciones extra-glandulares empeoran el pronóstico y reducen la supervivencia <sup>20</sup>. La complicación más grave es el desarrollo de linfomas

no Hodgking (LNH), en especial el linfoma MALT (imagen 6) que aparece en el 5% de los pacientes con SSp <sup>1</sup>.

**Imagen 6.** Imagen ecográfica en modo B y modo Doppler de un ganglio linfático afecto por un linfoma MALT en una paciente con síndrome de Sjögren primario que muestra un aumento del tamaño y un aumento de señal la Doppler intra-ganglionar.



Los factores pronósticos relacionados con el desarrollo de linfomas son la esplenomegalia, las adenopatías, la tumefacción parotídea persistente, las concentraciones bajas de complemento C4, y la disminución rápida del factor reumatoide y la presencia de crioglobulinas <sup>21</sup>.

### **Anticuerpos y otras pruebas de laboratorio en el SSp**

Los anticuerpos antinucleares (ANA) se detectan mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) o mediante técnica de *enzymatic linked immunoassay* (ELISA), el factor reumatoide (FR) se detecta

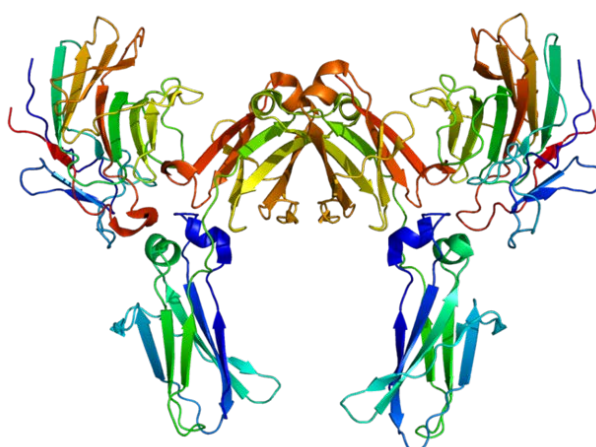
mediante nefelometría y los anticuerpos anti-SSA/Ro y los anti-SSB/La mediante técnica de ELISA. La IFI es una técnica de laboratorio que consiste en fijar y marcar con isotrionato de fluoresceína los antígenos del suero del paciente en un tejido (habitualmente células HEp-2), realizando varias diluciones de la muestra, comenzando en 1/80 en adultos. La visualización directa mediante microscopía óptica de los patrones de inmunofluorescencia nos permite la detección de ANA y de otros auto-anticuerpos. La técnica de ELISA, un inmunoensayo indirecto en fase sólida, puede ser una alternativa a la IFI, con la ventaja de poder analizar un gran número de muestras y procesarse de forma automática. La técnica de ELISA consiste en fijar el antígeno del suero del paciente a una placa de poliestireno, marcarlo con el sustrato adecuado y detectarlo mediante espectrofotometría.

La detección de autoanticuerpos es frecuentes en el SSp <sup>1, 22</sup>. Los principales son los ANA (60-90%), el FR (40-60%) y los anticuerpos anti-SSA/Ro 60 kDa (50-75%) y anti-SSB/La (50%) <sup>6, 23-28</sup>. Los anticuerpos anti-SSA/Ro, en concreto los dirigidos contra la proteína ubiquitina ligasa E3 conocida como Ro52/TRIM21 (*tripartite motif-containing*) <sup>29-30</sup> (figura 1) o anti-Ro52/TRIM21, son los más

característicos del SSp pero también pueden detectarse en pacientes con otras ERAS y en controles sanos <sup>31, 32</sup>.

**Figura 1. Estructura de la proteína Ro52/TRIM21**

Jawahar Swaminathan and MSD staff at the European Bioinformatics Institute <sup>33</sup>



Además de la positividad de los autoanticuerpos, los pacientes con SSp presentan otras alteraciones analíticas relevantes, como aumento de inmunoglobulina G, crioglobulinemia, linfopenia y disminución de las fracciones séricas del complemento.

### **Criterios de clasificación de SSp**

Se han desarrollado múltiples criterios de clasificación del SSp. Los más utilizados son los publicados en 2002 por el *American European Collaborative Group* (AECG) <sup>12</sup> (tabla 2). Los criterios de clasificación



AECG de 2002 se basan en los criterios preliminares de 1993, incluyen incluyen los mismos ítem que los criterios preliminares de 1993 pero hacen obligatorio la presencia de autoinmunidad (antiSSA/Ro y/o antiSSB/La, sin contar con ANA ni FR) o de biopsia positiva <sup>11</sup>.

Tabla 2. Criterios de clasificación AECG 2002 de síndrome de Sjögren primario

Se clasifica como SSp aquel paciente que cumple 4 de los 6 siguientes ítem, siendo alguno de ellos el ítem 5 o el 6: (Deben excluirse otras causas de sequedad ocular o bucal: Virus de la hepatitis C, VIH, linfoma, sarcoidosis, fármacos,...)
1. Síntomas oculares. Sequedad diaria durante más de 3 meses; sensación de arenilla; uso de lágrimas artificiales
2. Síntomas orales. Sequedad diaria durante más de 3 meses; parótidas hipertrofiadas, necesidad de beber para tomar alimentos secos
3. Signos oculares. Test de Schirmer sin anestesia menor de 5 mm/5 min; rosa de bengala (fluoresceína o verde lisamina) $\geq$ a 4 (escala Van Bijsterveld)
4. Función salival alterada. Flujo salival no estimulado menor de 1,5 ml/15 min; sialografía parotídea con sialectasias (sin obstrucción); gammagrafía salival alterada
5. Anticuerpos anti-SSA/Ro y/o anti-SSB/La positivos
6. Biopsia salival. 1 o más folículos linfoides por 4 mm <sup>2</sup> en tejido glandular

En 2012 el *American College of Rheumatology* (ACR) propuso otros criterios de clasificación <sup>13</sup> (tabla 3).

Tabla 3. Criterios de clasificación ACR 2012 de síndrome de Sjögren primario

Se clasifica como SSp a pacientes con signos y síntomas sugestivos de SS y que cumplan al menos 2 de las 3 características siguientes:
1. Positividad sérica anti-SSA/Ro y/o anti-SSB/La o FR positivo y títulos de ANA >160
2. Biopsia de glándula salival menor con sialoadenitis linfocítica focal (1 o más folículos linfoides por 4 mm <sup>2</sup> )
3. Queratoconjuntivitis seca con un score de tinción ocular $\geq 3$ (en pacientes sin cirugías corneales o tratamiento de glaucoma)

Los criterios de clasificación permiten la selección homogénea de pacientes con SSp para su inclusión en estudios observacionales y ensayos clínicos, pero no deben utilizarse para diagnosticar el SSp <sup>11-13</sup>. Los dos últimos criterios de clasificación coinciden en la importancia de los auto-anticuerpos y la biopsia de glándulas salivales menores <sup>12-13</sup>. Es obligatorio para cumplir los criterios de clasificación tener auto-anticuerpos o biopsia positiva tanto en los criterios AECG de 2002 <sup>12</sup> como en los criterios ACR de 2012 <sup>13</sup>. Para cumplir el ítem de

autoinmunidad de los criterios de clasificación AECG 2002 es necesario detectar anticuerpos anti-SSA/Ro y/o anti-SSB/La <sup>12</sup>, mientras que en los criterios ACR 2012 pueden detectarse anticuerpos anti-SSA/Ro y/o anti-SSB/La o la combinación de ANA y FR <sup>13</sup>. La sensibilidad (AECG 2002 89,5% vs ACR 2012 84,2%) y la especificidad (AECG 95,2% vs ACR 2012 95,2%) son similares para ambos criterios de clasificación <sup>12, 13</sup>. A pesar de todo lo expuesto, sigue habiendo desacuerdos y ya se han propuesto nuevas revisiones de los criterios en un futuro próximo <sup>34</sup>.

### **Ecografía de las glándulas salivales en el SSp**

La ecografía es una técnica de imagen inocua y bien aceptada por el paciente, es indolora, rápida y barata. La ecografía se ha incorporado a la práctica clínica del reumatólogo de forma progresiva y es una importante herramienta de imagen en la actualidad <sup>35</sup>. Consiste en la emisión y recepción de ultrasonidos mediante un transductor piezoeléctrico de cristales (sonda) y su representación en forma de imagen en escala de grises o modo B. El modo Doppler (Doppler color y Power Doppler) es un modo de ecografía que detecta el movimiento y se representa como una imagen de color sobre el modo B. El modo Doppler color permite detectar la dirección y velocidad de los vasos, representando con un color diferente el flujo sanguíneo que se aleja y el

que se acerca al transductor. El modo Power Doppler es ligeramente más sensible pero no aporta información sobre la dirección del flujo sanguíneo. El modo B aporta información sobre la estructura de los tejidos, permitiendo diferenciarlos según su ecogenicidad, y el modo Doppler aporta información sobre la vascularización. La frecuencia de ultrasonidos utilizada en el ámbito médico varía entre 4 y 22 MHz, aunque existen sondas con frecuencias superiores. A mayor frecuencia, por tanto menor espacio entre las ondas de ultrasonido, se consigue una mayor resolución pero con menor penetración en el tejido. Por el contrario, una frecuencia menor permitirá mayor penetración en el tejido con menor resolución de la imagen. Las frecuencias altas se utilizan para evaluar estructuras superficiales (p.e. entesis aquilea o rotuliana y pequeñas articulaciones de la mano) mientras que las frecuencias bajas se utilizan para evaluar estructuras profundas (p.e. articulaciones de cadera y hombro). Sin embargo, la ventana ecográfica (anatomía accesible a los ultrasonidos) limita en ocasiones la evaluación de algunas estructuras, además de presentar limitaciones en la resolución de la imagen al evaluar estructuras muy profundas. El modo Doppler incluye la *pulse repetition frequency* (PRF), es decir la frecuencia con la que la sonda ecográfica emite los ultrasonidos por segundo y se mide en hercios (Hz). Cuanto menos frecuente sea la

emisión, PRF menor, más sensibilidad se obtiene para detectar vasos con bajo flujo, por tanto vasos pequeños. A mayor PRF, mayor frecuencia en la emisión de ultrasonidos, se obtiene mayor sensibilidad para detectar vasos con alto flujo, por tanto vasos grandes. En Reumatología es importante detectar vasos con bajo flujo que representan inflamación tisular, y por ello es frecuente utilizar un PRF bajo.

La ecografía se ha utilizado para evaluar las glándulas exocrinas desde hace más de 30 años <sup>36-38</sup>, principalmente la glándula tiroides y las glándulas salivales mayores (glándulas parótidas y submandibulares), ayudando al diagnóstico de nódulos, quistes y calcificaciones, además de guiar punciones <sup>39, 40</sup>.

La EGS también nos puede ayudar en el diagnóstico del SSp. Los primeros artículos que describen alteraciones ecográficas (imágenes hipoecoicas ovaladas y desestructuración del parénquima glandular) de las glándulas salivales mayores en pacientes con SSp datan de 1988 y son descripciones de casos clínicos <sup>41, 42</sup>. De Vita et al. <sup>43</sup> publicaron en 1992 el primer estudio que describió la frecuencia de las alteraciones de la EGS en pacientes con SSp y SS secundario (SSs), tomando como grupo control tanto pacientes con sequedad bucal como asintomáticos.

Además, desarrollaron una escala ecográfica de graduación de las lesiones que graduaba la ecoestructura en modo B en 4 grados, considerando los grados 0 y 1 normales y los grados 2 y 3 patológicos y consistentes con SS <sup>43</sup>.

La literatura científica recoge estudios con diferentes escalas de graduación que evalúan la sensibilidad y la especificidad de la EGS en el SSp, la frecuencia de alteraciones en la EGS en el SSp, así como su fiabilidad inter e intra-observador. Se han publicado también estudios que evalúan la asociación de la EGS con la clínica extra-glandular y los linfomas, así como la utilidad de incluirla en los criterios de clasificación del SSp <sup>43-67</sup>. Se han propuesto varias escalas de graduación semicuantitativa de la ecoestructura glandular en modo B, de 3, 4 y 5 grados, sin una clara ventaja de ninguna de ellas <sup>43-54</sup>. En cuanto a la fiabilidad de la EGS en modo B la información es escasa <sup>43-48</sup>, pero los estudios que evaluaron la fiabilidad inter-observador demostraron un acuerdo excelente entre 2 o 3 observadores, con un estadístico *k* mayor a 0,8 <sup>44-48</sup>, y el único estudio que evaluó la fiabilidad intra-observador también tuvo excelentes resultados al graduar la EGS de forma dicotómica, *k* mayor a 0,85 <sup>45</sup>.

La sensibilidad diagnóstica de la EGS varía entre el 33 y el 92,1% según los estudios publicados, siendo cercana al 70% en la mayoría y demostrándose similar a la sensibilidad de la gammagrafía salival <sup>43-54</sup>. La especificidad fue superior al 80% en todos los estudios publicados <sup>43-51, 55, 56</sup>, y permite diferenciar el SSp de otras conectivopatías incluso de forma temprana <sup>57-59</sup>. Las alteraciones ecográficas también pueden aparecer en otras enfermedades como el síndrome de hiperinmunoglobulinemia G4 <sup>60</sup>.

En alguno de los estudios de EGS publicados, las alteraciones ecográficas se asociaron con mayor riesgo de linfoma y mayor afectación extraglandular, sugiriendo un papel pronóstico de la EGS en los pacientes con SSp <sup>46, 52</sup>. Además hay estudios que encuentran asociación entre las alteraciones ecográficas típicas de SSp y la presencia de autoanticuerpos (ANA, FR, anti-SSA/Ro y anti/La), independientemente de la escala de graduación utilizada <sup>46, 47, 49, 52, 54</sup>.

### **Ecografía de glándulas salivales como posible ítem en los criterios de clasificación en el SSp**

Los estudios que compararon la EGS con la sialografía y la gammagrafía salival concluyeron que presentaban una sensibilidad y especificidad

similar <sup>61-64</sup>. Los estudios que plantearon incorporar la EGS a los criterios diagnósticos (AECG 2002 y ACR 2012) o sustituir la gammagrafía o la sialografía por la EGS, demostraron que la sensibilidad y especificidad de los criterios se mantenían al sustituir la gammagrafía salival por la EGS y que aumentaban cuando se añadían a los ítems actuales (77,9% vs 87%) <sup>61-64</sup>.

La EGS es una técnica de imagen prometedora para la evaluación de las GS en pacientes con SSp, pero la heterogeneidad de la literatura con respecto a la graduación, la sensibilidad y la especificidad de la técnica, así como la escasez de información sobre su fiabilidad inter e intra-observador, hacen que la EGS no se haya incluido en los criterios de clasificación ni se haya implementado en la rutina clínica del reumatólogo. Aún existe controversia por que la técnica no está estandarizada en su realización, en su graduación, ni se ha determinado su utilidad diagnóstica y/o pronóstica <sup>65-70</sup>. Sin embargo, cada vez es más aceptado un rol en el diagnóstico del SSp y su relación con la autoinmunidad, la afectación extra-glandular y el mayor riesgo de linfoma No-Hodking <sup>46</sup>.



## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

## **HIPÓTESIS**

La EGS es una técnica de imagen útil para evaluar la morfología de las GS en pacientes con SSp. La evaluación puede ser graduada de forma fiable y se relaciona con aspectos clínicos y de laboratorio.

## **OBJETIVOS**

Los objetivos del estudio fueron:

- 1- Describir el aspecto ecográfico normal de las GS mayores en población sana y las lesiones ecográficas elementales de las GS mayores de pacientes con SSp
- 2- Desarrollar una escala de graduación ecográfica de las lesiones de las GS en el SSp.
- 3- Determinar la fiabilidad intra e inter-observador de la escala de graduación desarrollada.
- 4- Aplicar la escala de graduación desarrollada a pacientes con SSp y determinar las posibles asociaciones con aspectos clínicos y/o inmunológicos de laboratorio.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

## MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo entre Septiembre de 2012 y Junio de 2014, en las consultas externas del Servicio de Reumatología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM), Madrid, España. Los resultados fueron aceptados en congresos internacionales en 2015 <sup>71</sup> y una parte de ellos se publicaron en *The Journal of Rheumatology* en 2016 <sup>72</sup>.

Se seleccionaron pacientes con diagnóstico de SSp incluidos en el Registro de ERAS del Servicio de Reumatología del HGUGM de Madrid (Registro ERAS-HGUGM de Madrid) iniciado en 1988 y actualizado cada 2 años. Los pacientes con SSp incluidos en el registro de ERAS se seleccionan tras la revisión de las historias clínicas de la consulta externa, cumpliendo los criterios europeos de clasificación de SSp de 1993 <sup>10</sup>. La realización de biopsia de glándulas salivales en el HGUGM no se realiza de forma rutinaria por dificultades logísticas y por una baja rentabilidad diagnóstica en el propio centro. Se escogieron controles sanos entre los trabajadores del hospital. Tanto los controles sanos como los pacientes con SSp firmaron el consentimiento informado antes de ser incluidos en el estudio. Se citó a los pacientes en horario de tarde

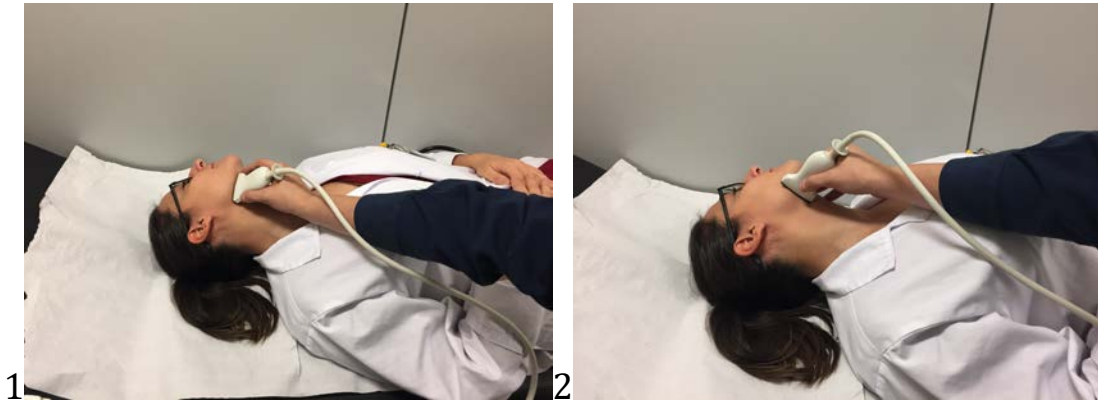
entre las 16:00 y las 19:00 horas y cada exploración ecográfica duró entre 5 y 10 minutos.

La exploración ecográfica se realizó con un ecógrafo de la marca General Electric E9 (*GE Medical Systems Ultrasound and Primary Care Diagnostics, LLC, Wauwatosa, WI, USA*), usando una sonda lineal (6-15 MHz) en modo B y en modo Doppler. La exploración en modo B se realizó con 15 MHz de frecuencia y una ganancia de 35 db y en modo Doppler se realizó con frecuencia de 7,5 MHz, una ganancia de 21 db y un PRF de 1.200 Hz.

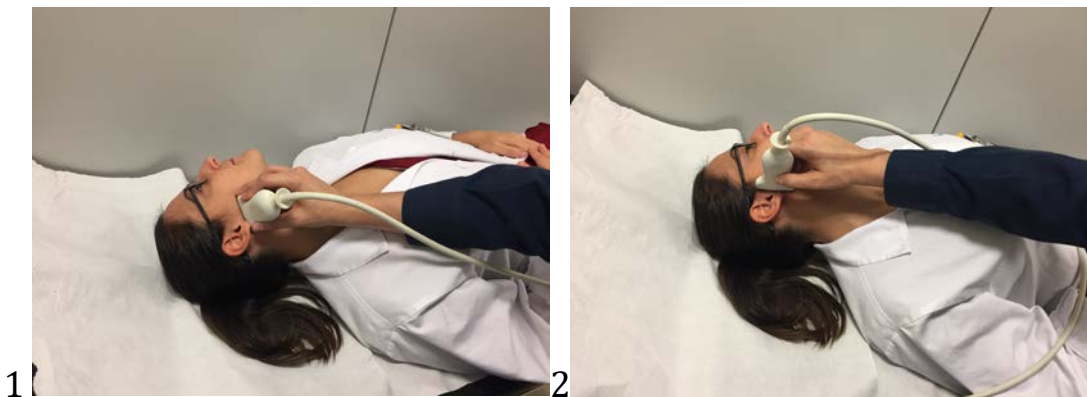
De acuerdo con la literatura <sup>(32-43)</sup> y con la práctica clínica propia se decidió que la evaluación ecográfica se hiciera con el paciente tumbado en decúbito supino sobre la camilla, con las piernas colgando por uno de los extremos de la camilla. La cabeza del paciente se posicionó ligeramente extendida y rotada al lado contrario de las glándulas evaluadas (imágenes 7 y 8). Se exploraron las GS mayores (glándulas parótidas y submandibulares) en longitudinal y transversal en modo B, guardándose una imagen representativa de cada una de las glándulas de los pacientes y de los controles. Las imágenes representativas fueron en longitudinal y transversal, por debajo de la mandíbula para las glándulas

submandibulares y por delante del trago de la oreja para las glándulas parótidas en longitudinal y por debajo de la oreja en transversal.

**Imagen 7. Evaluación de glándula submandibular derecha en longitudinal (1) y transversal (2).**



**Imagen 8. Evaluación de glándula parótida derecha en longitudinal (1) y transversal (2).**



## **1.- Descripción ecográfica de las GS normales y patológicas**

Se realizó una exploración ecográfica de las GS mayores en controles sanos. Todos los controles completaron un cuestionario desarrollado para el estudio (Anexo 1) en el que se preguntó sobre sintomatología de sequedad bucal y ocular, enfermedades que produjeran síntomas de sequedad (virus de la hepatitis C, VIH, diabetes mellitus y tiroiditis autoinmune) y consumo de fármacos (fármacos antidepresivos, benzodiacepinas, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, calcio-antagonistas, diuréticos y beta bloqueantes). Los primeros 20 candidatos que respondieron de forma negativa a todas las preguntas se incluyeron en el estudio como controles sanos y se les realizó una exploración ecografía de las GS, guardando las imágenes representativas de cada glándula.

Se escogieron de forma aleatoria 30 pacientes diagnosticados de SSp (criterios AECG 2002) en el Servicio de Reumatología e incluidos en el registro ERAS-HGUGM de Madrid. Se les realizó una exploración ecográfica de las GS mayores según la técnica descrita, guardando las imágenes representativas de cada glándula.

Las imágenes de los controles y de los pacientes con SSp fueron evaluados de forma conjunta por dos reumatólogos con experiencia en EGS (Esperanza Naredo [20 años de experiencia en ecografía del aparato locomotor y 7 años de experiencia en ecografía de glándulas salivales] y Juan Carlos Nieto [3 años de experiencia en ecografía del aparato locomotor y 1 año de experiencia en ecografía de glándulas salivales]), describiendo el aspecto ecográfico (ecogenicidad y ecoestructura del parénquima glandular, bordes glandulares y presencia de adenopatías) de las GS normales y las lesiones elementales de las GS patológicas.

## **2.- Desarrollo de una escala de graduación ecográfica de las GS**

Después de la descripción ecográfica de normalidad y patología, los mismos reumatólogos volvieron a evaluar las imágenes y se consensuó una escala de graduación semicuantitativa de la ecoestructura glandular en modo B que incluyera desde el aspecto ecográfico normal a la alteración máxima de la glándula. Para desarrollar la escala de graduación se consideraron las alteraciones ecográficas demostradas en los controles y en los pacientes explorados, así como la literatura científica disponible <sup>43-54</sup>.



### **3.- Fiabilidad inter- e intra-observador de la escala de graduación**

Se escogieron de forma aleatoria 100 pacientes con diagnóstico de SSp diferentes de los estudiados en la primera evaluación. Los pacientes fueron seleccionados del Registro ERAS-HGUGM del Servicio de Reumatología por un reumatólogo diferente (FJ López Longo). Todos los pacientes cumplían los criterios de clasificación de 1993 <sup>10</sup>. Se realizó una exploración ecográfica de las GS mayores en modo B de la forma descrita previamente, eliminando la exploración transversal de las glándulas submandibulares por ser una mala ventana ecográfica y no aportar información adicional. Se guardaron las imágenes predeterminadas de cada glándula.

La fiabilidad inter-observador de la escala de graduación desarrollada fue evaluada sobre las imágenes ecográficas guardadas de forma independiente por los 2 reumatólogos previamente mencionados (E. Naredo y JC Nieto). La evaluación se repitió pasados 2 meses por uno de ellos (JC Nieto) para evaluar la fiabilidad intra-observador.

La fiabilidad inter-observador se evaluó de nuevo posteriormente entre un número mayor de observadores mediante la graduación de las GS en tiempo real, explorando a pacientes con SSp y a controles sanos. Se

realizaron 2 ejercicios de fiabilidad inter-observador con múltiples observadores. El primero fue un ejercicio colaborativo internacional en el que participaron 5 reumatólogos expertos en EGS, realizado en el Instituto de Reumatología y Rehabilitación de Belgrado, Serbia, en noviembre de 2013. Participaron 2 reumatólogos serbios (N. Damjanov y V. Milic) y 3 reumatólogos españoles (L. Carreño, E. Naredo y JC Nieto). Antes de comenzar el ejercicio de fiabilidad, los investigadores consensuaron la escala de graduación semicuantitativa de 4 grados (0-3) tanto en modo B como en modo Doppler color.

Cada observador evaluó en modo B y Doppler color las GS mayores de 32 individuos (24 pacientes con diagnóstico de SSp y 8 controles sanos) escogidos de forma aleatoria, mediante la técnica de exploración descrita previamente.

Se utilizó un ecógrafo My Lab 70 XVG (Esaote Biomedica), con sonda lineal de 4-13 MHz usando en modo B 13 MHz de frecuencia y una ganancia 50 db en modo B, y usando en modo Doppler 12,5 MHz de frecuencia, ganancia al 50% y un PRF 750 HZ. Ninguno de los participantes conocía previamente las alteraciones ecográficas de los individuos incluidos en el ejercicio.

El segundo ejercicio de fiabilidad inter-observador con múltiples observadores se realizó en el HGUGM de Madrid, España, en febrero de 2014. Participaron 8 reumatólogos, 2 reumatólogos experimentados en EGS (E. Naredo y JC Nieto) y 6 reumatólogos inexpertos en EGS pero con experiencia en ecografía musculo-esquelética (I. Janta, L. Martínez-Estupiñan, C. Mata, M. Montoro, B. Serrano y D. Stanciu,). Se realizó una sesión didáctica con imágenes ecográficas representativas y con 2 pacientes con SSp, para estandarizar la exploración ecográfica de las GS y su graduación según la escala desarrollada, tanto en modo B como en modo Doppler. La sesión se realizó una semana antes del ejercicio de exploración y tuvo una duración de 2 horas.

En el segundo ejercicio se exploraron y graduaron las GS en modo B y modo Doppler a 8 pacientes con SSp. Los pacientes fueron seleccionados del Registro ERAS-HGUGM del Servicio de Reumatología por un reumatólogo diferente (FJ López Longo). Ninguno de los reumatólogos que realizaron las EGS conocía las alteraciones ecográficas de los pacientes explorados.

Se utilizó un ecógrafo General Electric E9 (*GE Medical Systems Ultrasound and Primary Care Diagnostics, LLC, Wauwatosa, WI, USA*),

usando una sonda lineal (6-15 MHz) en modo B y en modo Doppler. La exploración en modo B se realizó con 15 MHz de frecuencia y una ganancia de 35 db y en modo Doppler se realizó con frecuencia de 7,5 MHz, una ganancia de 21 db y un PRF de 1.200 Hz.

#### **4.- Asociación entre los hallazgos ecográficos de las GS y las características del SSp**

Se utilizaron los datos de los 100 pacientes con diagnóstico de SSp incluidos en el ejercicio de fiabilidad descrito. Se comprobó quienes cumplían criterios de clasificación AECG 2002 o ACR 2012 según los criterios inmunológicos y se recogieron de forma retrospectiva los datos demográficos (género, edad, edad en el momento del diagnóstico, tiempo de evolución de la enfermedad), los datos clínicos (parotiditis recurrente, linfoma o leucemia/linfoma pasado o actual, clínica extra-glandular pasada o actual) y los datos de laboratorio (hemograma, reactantes de fase aguda, autoanticuerpos, inmunoglobulinas).

Los autoanticuerpos detectados en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con SSp son los ANA detectados por IFI sobre células HEp-2 o ELISA, el FR medido por nefelometría, y los anticuerpos anti-SSA/Ro

(anti-Ro) y los anti-SSB/La (anti-La) detectados mediante ELISA y/o enzimoimmunoanálisis en tira <sup>26</sup>.

Se consideraron manifestaciones extra-glandulares las manifestaciones articulares (artralgias inflamatorias y/o artritis), cutáneas (erupción malar, fotosensibilidad y/o lupus cutáneo), renales (síndrome nefrótico o nefrítico y/o aciduria tubular renal), neurológicas (accidente cerebrovascular y/o convulsiones), hematológicas (linfopenia, plaquetopenia y/o neutropenia) y pulmonares (neumonitis intersticial y/o serositis).

Se clasificaron a los pacientes en 3 subgrupos en función de la combinación de auto-anticuerpos positivos. En el primero se incluyeron los pacientes que presentaron de forma simultánea o secuencial ANA, FR y anti-Ro-SSA o anti-La-SSB positivos (grupo seropositivo completo), en el segundo los pacientes que tuvieron positivos solo algunos de dichos auto-anticuerpos pero no todos ellos (grupo seropositivo incompleto), y en el tercero pacientes que no presentaron ningún auto-anticuerpo positivo (grupo seronegativo).

Se clasificó también a los pacientes en 2 grupos según los auto-anticuerpos que permitían cumplir el ítem de autoinmunidad de los

criterios de clasificación AECG 2002/ACR 2012, es decir, aquellos pacientes con ANA y FR positivos (grupo 1) y aquellos con anti-Ro-SSA o anti-La-SSB positivos (grupo 2). Estos 2 grupos no eran excluyentes entre sí.

Aplicamos los criterios de clasificación actuales (AECG 2002/ACR 2012) según el criterio inmunológico en nuestra muestra de pacientes y clasificamos a los pacientes en 2 grupos de pacientes, aquellos que cumplían los criterios de clasificación (cualquiera de los dos criterios, AECG 2002 o ACR 2012) y aquellos que no los cumplían.

## **5.- Estadística**

El análisis estadístico se divide en dos partes, la primera parte diseñada para medir la fiabilidad de la escala de graduación semicuantitativa de la ecografía de GS; y la segunda para comparar grupos de pacientes, como por ejemplo aquellos con EGS patológica frente a aquellos con EGS normal.

La fiabilidad inter e intra-observador se midió con el estadístico *kappa*  $\kappa$ , tanto ponderado<sup>73</sup> como no ponderado <sup>74, 75</sup>. El acuerdo inter-observador fue calculado por el total (definido como el porcentaje

medio de acuerdos exactos observados) y por el  $k$  de *Light* (es decir, la media del  $k$  para todos los pares de observaciones) para evaluar el acuerdo entre múltiples observadores. El  $k$  Ponderado se calculó con las ponderaciones absolutas para los puntajes de MB y MD. En caso de valores de  $\kappa'$  entre 0,0 y 0,20 se consideró relación casual, entre 0,21 y 0,40 se consideró mala, entre 0,41 y 0,60 se consideró aceptable, entre 0,61 y 0,80 se consideró buena y por encima de 0,80 se consideró excelente <sup>76</sup>.

Para describir las variables del estudio, se utilizaron las medias (y desviaciones típicas), o bien las medianas (y rangos inter-cuartílicos) para las variables cuantitativas. Para las variables categóricas se emplearon los porcentajes de las categorías relevantes. Se estudió la asociación de los grupos con las diferentes variables clínicas y de laboratorio. La asociación entre los grupos y las variables categóricas se estudió mediante la prueba Ji-cuadrado de Pearson sobre independencia. La asociación entre los grupos y las variables cuantitativas se estudió mediante la prueba de la  $t$  de Student para muestras independientes, o bien mediante el ANOVA de un factor para muestras independientes. Para controlar la tasa de error tipo I, se aplicó la corrección de Bonferroni a cada familia de pruebas estadísticas. Los

valores de  $p'$  se consideraron estadísticamente significativos por debajo de 0,05.



## **RESULTADOS**

## RESULTADOS

### **1.- Descripción ecográfica de las GS normales y patológicas**

Se evaluaron 80 GS, 40 parótidas y 40 submandibulares, de los 20 controles. Las GS de los individuos sanos resultaron estructuras homogéneas con patrón puntiforme, hiperecóicas con respecto al músculo y al tejido celular subcutáneo, con bordes bien definidos hiperecóicos (imagen 9a y 9b).

Se visualizaron imágenes lineales hiperecóicas que corresponden con septos fibrosos e imágenes lineales hipo/anecoicas dentro del parénquima glandular con señal Doppler correspondiente con vasos sanguíneos (arteria y vena faciales). Ocasionalmente pueden demostrarse imágenes lineales hipo/anecoicas de bordes hiperecóicos sin señal Doppler que corresponden con ductos. La descripción que hicimos de las glándulas salivares no dista en exceso de otras descripciones publicadas previamente por radiólogos: “estructura de ecogenicidad homogénea e hiperecóica con respecto a los músculos adyacentes, con el conducto de Stenon, lineal e hipoecóico visible o no en las glándulas parótidas y pudiendo encontrarse ganglios linfáticos intra-parenquimatosos” <sup>39, 40</sup>.

Se evaluaron 120 GS, 60 parótidas y 60 submandibulares, de los 30 pacientes con SSp incluidos. Fueron 27 mujeres (90%), con una edad media de 59,3 años, y con 15,8 (rango 3-34) años de tiempo medio de evolución de la enfermedad. De los 30 pacientes con SSp, la mitad presentaron unas GS de aspecto normal, y la otra mitad presentaron alteraciones ecográficas que se describieron como imágenes hipo/anecóicas ovaladas confluentes o no, con pérdida del patrón homogéneo glandular normal (imágenes 10 y 11). Los bordes glandulares se encuentran difuminados con respecto a las glándulas normales y el tamaño no presentó cambios relevantes.

**Imagen 9a y 9 b. Imagen ecográfica en longitudinal (modo B) de la glándula submandibular izquierdo normal (9a) con las estructuras señaladas (9b).**

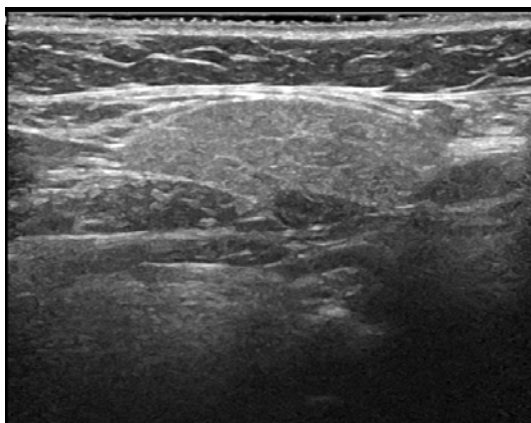


Imagen 10

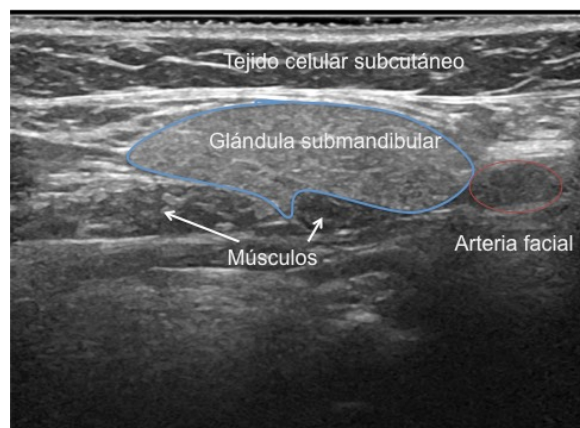
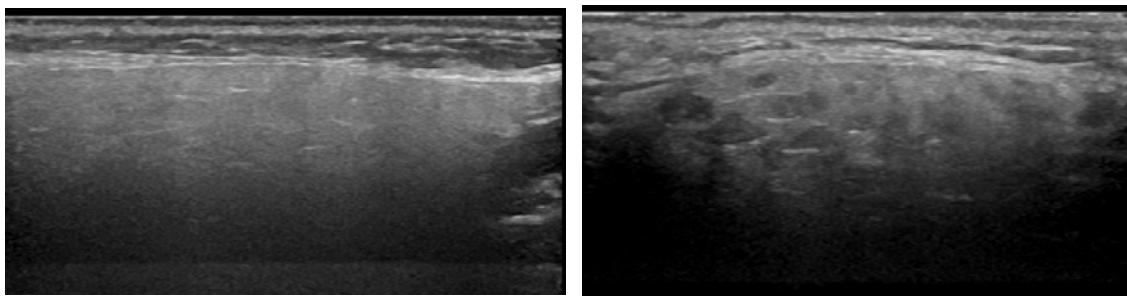


Imagen 11



**Imágenes 10 y 11. Imágenes de ecografía de glándulas parótidas normal en longitudinal (1) y patológica (grado II) en transversal (2) con imágenes hipo/anecoicas ovaladas confluentes dentro del parénquima glandular.**

## **2.- Desarrollo de una escala de graduación ecográfica de las GS**

Se revisaron las imágenes obtenidas de los 50 individuos previamente comentados (20 controles y 30 pacientes con SSp). Se consensuó una escala de graduación semicuantitativa de la ecoestructura glandular de 4 grados, de 0 a 3, siendo el grado 0 una glándula normal, y el grado 3 el de mayor alteración. Los bordes glandulares, la presencia de ganglios linfáticos y el tamaño glandular se excluyeron de la escala de graduación final por no representar una alteración glandular ni aportar información añadida.

La fiabilidad inter-observador (2 observadores) de los bordes glandulares de las glándulas submandibulares fue casual ( $K < 0,15$ ), mientras que la presencia o no de ganglios linfáticos tuvo una fiabilidad aceptable tanto en las glándulas parótidas ( $K = 0,52$ ) como en las submandibulares ( $K = 0,49$ ). La fiabilidad intra-observador de los bordes

glandulares de las glándulas submandibulares fue aceptable ( $K < 0,57$ ) y la presencia o no de ganglios linfáticos fue aceptable en las glándulas parótidas ( $K = 0,58$ ) y mala en las submandibulares ( $K = 0,29$ ). La tabla 4 resume la definición de cada uno de los grados de la escala semicuantitativa de graduación de la ecoestructura glandular (modo B) y en modo Doppler (imágenes 12-15).

**Tabla 4. Escala de graduación semicuantitativa y su definición en modo B y Doppler color consensuada en el primer ejercicio de fiabilidad inter-observador, Belgrado, Serbia.**

Grado	Modo B	Doppler color
0	Patrón homogéneo puntiforme isoecogénico con respecto al parénquima tiroideo sano	Ausencia de señal Doppler en el parénquima glandular
1	Pérdida leve de homogeneidad sin áreas redondeadas hipo o anecogénicas	Señal Doppler en menos del 25% del parénquima glandular
2	Pérdida moderada de homogeneidad con o sin áreas redondeadas múltiples hipo o anecogénicas vistas en 2 planos perpendiculares, con al menos algún área con grados 0 o 1	Señal Doppler en el 50% del parénquima glandular
3	Pérdida grave de homogeneidad con o sin áreas focales redondeadas hipo o anecogénicas vistas en 2 planos perpendiculares ocupando todo el parénquima glandular	Señal Doppler en más del 50% del parénquima glandular

Se consideró una EGS normal aquella con grados 0 o I, y una EGS patológica o típica de SSp aquella con grados II o III, basándonos en la literatura publicada <sup>43-49</sup> y en la presencia de lesiones estructurales evidentes en los grados II y III. Se tomó como grado global del paciente el grado de la glándula con mayor alteración.

Imagen 12

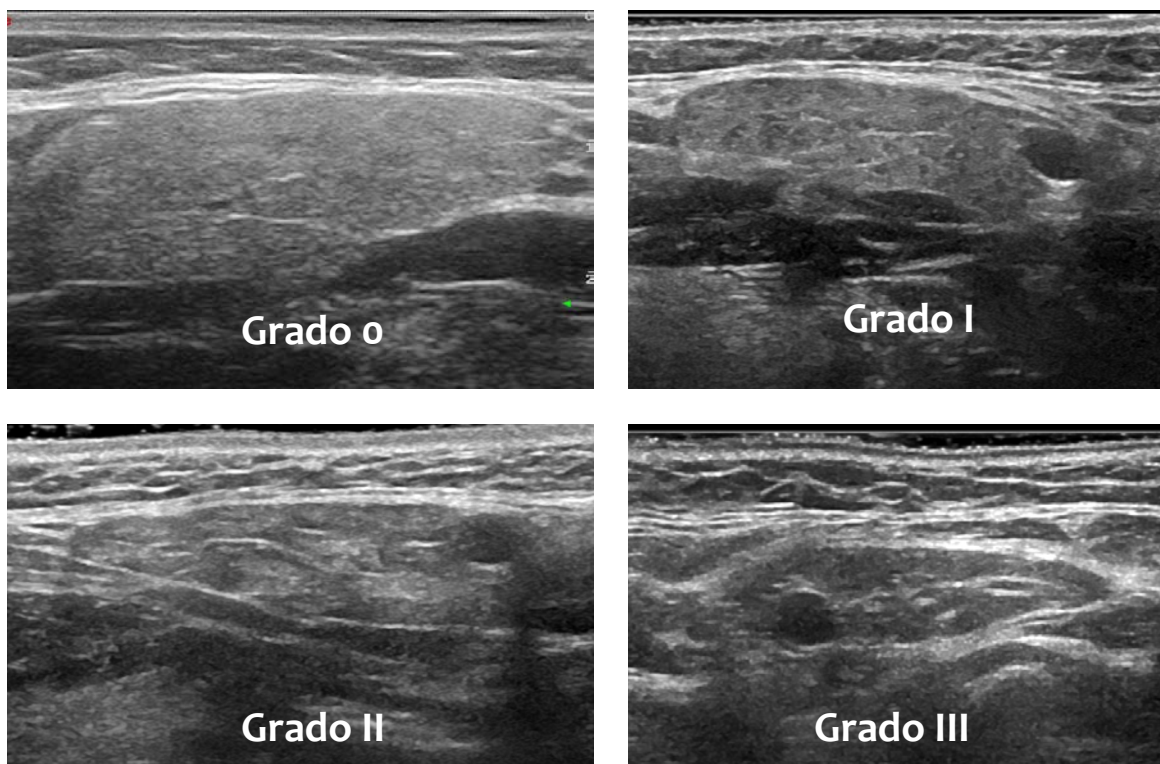
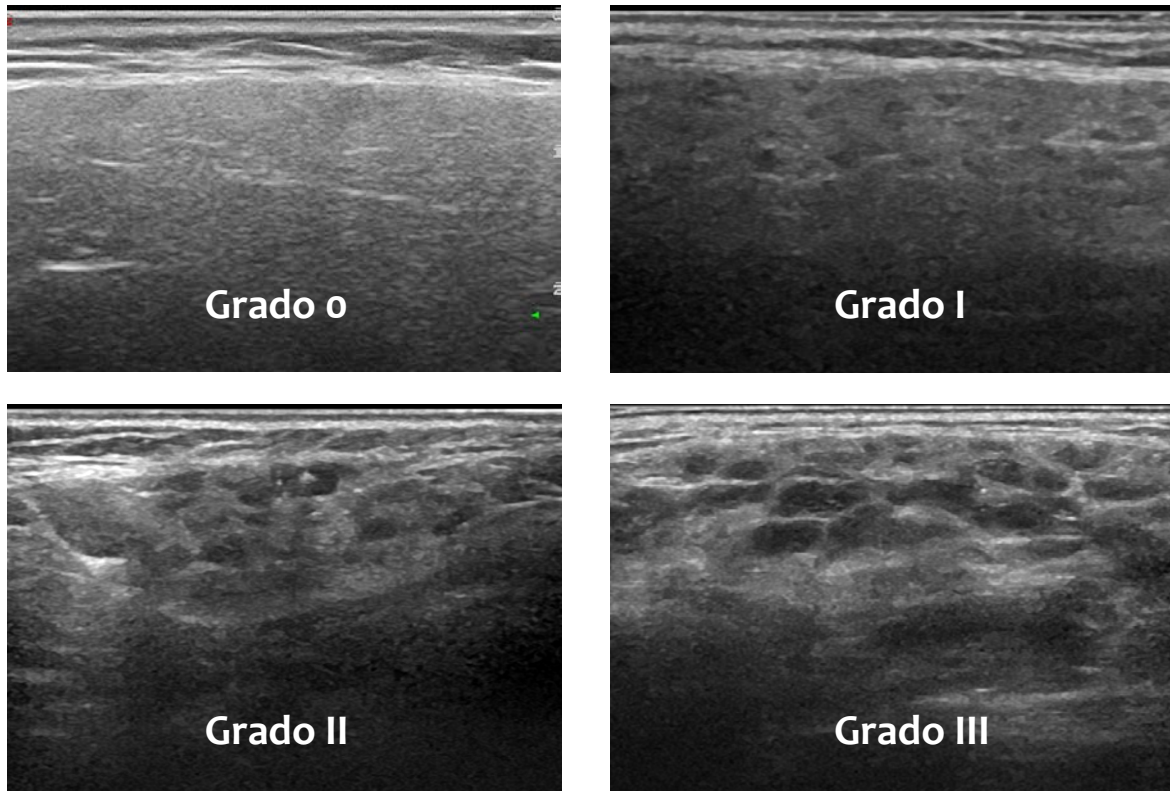


Imagen 13



**Imágenes 12 y 13. Imágenes representativas en modo B de los 4 grados de la ecoestructura de glándulas submandibulares (12) y parótidas (13).**

Imagen 14

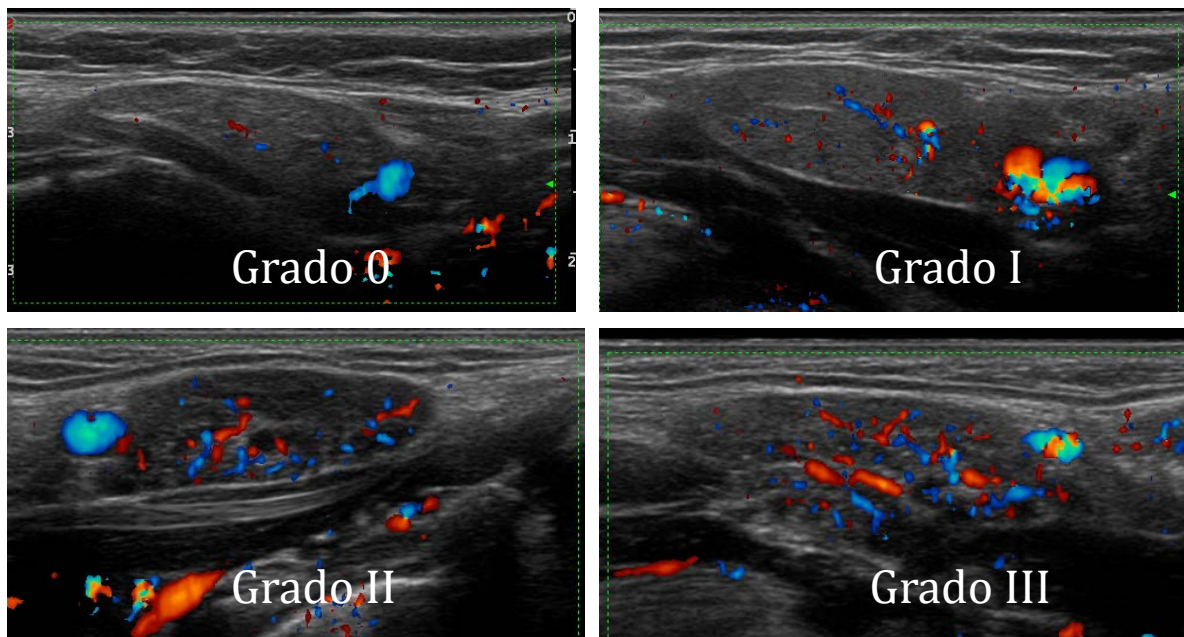
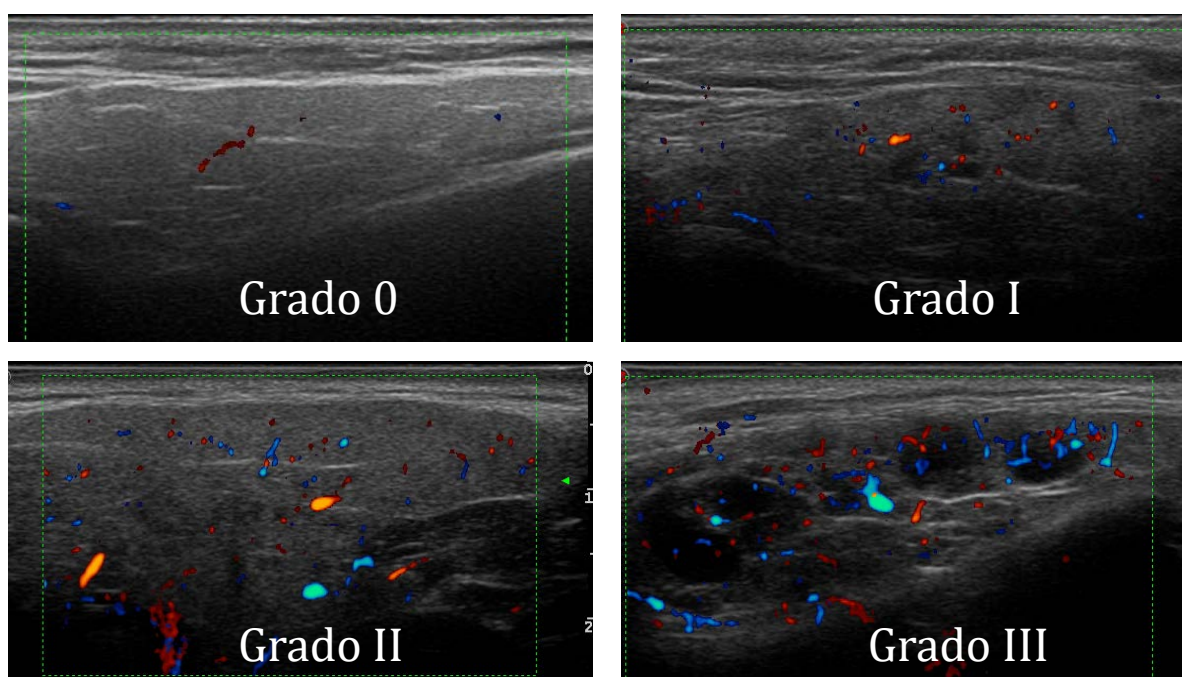




Imagen 15



**Imágenes 14 y 15. Imágenes representativas (modo Doppler) de los 4 grados de vascularización de glándulas submandibulares (14) y parótidas (15).**

### **3.- Fiabilidad inter- e intra-observador de la escala de graduación**

La fiabilidad inter-observador entre 2 observadores de la ecoestructura glandular en modo B graduada de forma semicuantitativa de 0 a 3 fue mala ( $\kappa$  de Cohen=0.35) para las glándulas submandibulares y buena ( $\kappa$  de Cohen=0.664) para las glándulas parótidas. La fiabilidad inter-observador cuando se tomó la graduación de forma ponderada, tomando como más cercanos entre sí los grados considerados normales (grados 0 y I) y por otra parte los grados típicos de SSp (grados II y III), fue aceptable ( $\kappa$ =0.536) para las glándulas submandibulares y buena ( $\kappa$ =0.79) para las glándulas parótidas (Tabla 5).



La fiabilidad intra-observador de la ecoestructura glandular en modo B graduada de forma semicuantitativa ponderada fue buena para las glándulas submandibulares ( $\kappa=0.664$ ) y excelente para las glándulas parótidas ( $\kappa=0.911$ ) (Tabla 5).

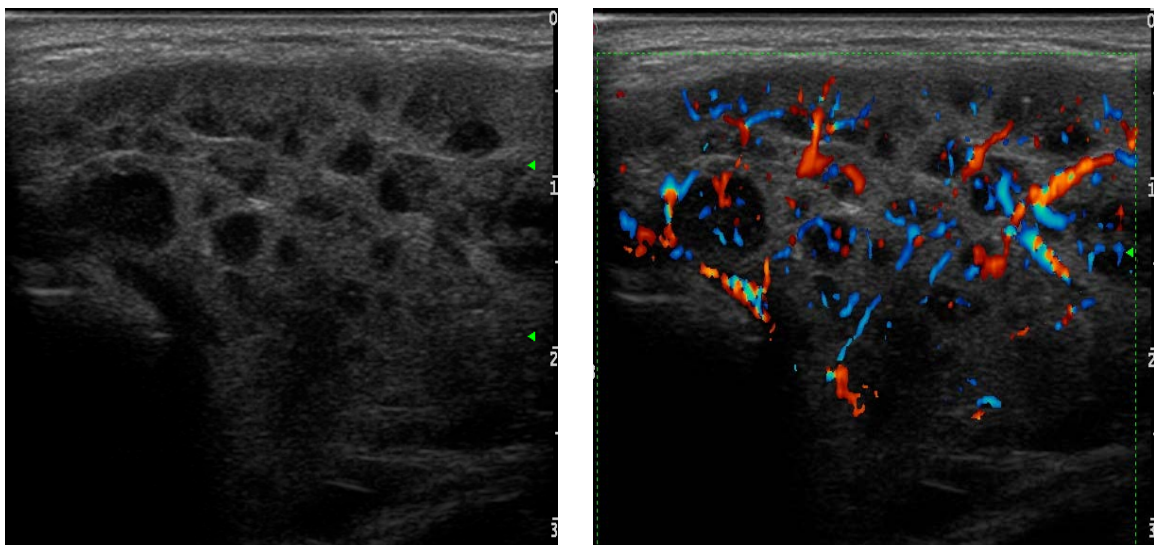
**Tabla 5. Resultados de fiabilidad (*k* de Cohen) inter-observador (2 observadores) e intra-observador de forma semicuantitativa ponderada y no ponderada.**

	Inter-observador			Intra-observador		
	Modo B			Modo B		
	$\kappa'$ no ponderado	$\kappa'$ ponderado (0-1 y 2-3)	$p'$	$\kappa'$ no ponderado	$\kappa'$ ponderado (0-1 y 2-3)	$p'$
<b>Submandibular derecha</b>	0.350 (0.232-0.468)	0.536 (0.409-0.663)	<0.001	0.538 (0.416-0.66)	0.664 (0.474-0.854)	<0.001
<b>Submandibular izquierda</b>	0.187 (0.081-0.293)	0.425 (0.303-0.547)	<0.001	0.58 (0.458-0.702)	0.642 (0.448-0.836)	<0.001
<b>Parótida derecha</b>	0.664 (0.537-0.791)	0.793 (0.64-0.946)	<0.001	0.663 (0.534-0.792)	0.911 (0.713-1.0)	<0.001
<b>Parótida izquierda</b>	0.655 (0.53-0.78)	0.777 (0.632-0.922)	<0.001	0.669 (0.54-0.798)	0.887 (0.689-1.0)	<0.001

En el primer ejercicio de fiabilidad multiobservador, con 5 observadores, se exploraron 640 GS, de 24 pacientes con SSP y 8 controles sanos (imagen 16). Cada exploración tomó entre 5 y 10 minutos aproximadamente. La fiabilidad inter-observador de la ecoestructura en modo B fue buena ( $\kappa=0.71-0.73$ ) para las glándulas

submandibulares y de buena a excelente ( $\kappa=0.79-0.81$ ) para las glándulas parótidas. La fiabilidad inter-observador de la vascularización en modo Doppler fue aceptable ( $\kappa=0.53-0.58$ ) para las glándulas submandibulares y de aceptable a buena ( $\kappa=0.58-0.70$ ) para las glándulas parótidas (tabla 6).

**Imagen 16. Imagen ecográfica transversal de una glándula parótida en modo B (grado II) y modo Doppler (grado III) tomadas en el ejercicio de fiabilidad de Belgrado**



**Tabla 6. Resultados de fiabilidad ( $\kappa$  de Ligth ponderado) inter-observador de la escala semicuantitativa en modo B y Doppler color entre 5 observadores.**

	<b>Inter-observador Modo B</b>		<b>Inter-observador Modo Doppler</b>	
	$\kappa$ ponderado (0-1 y 2-3)	$p$	$\kappa$ ponderado (0-1 y 2-3)	$p$
<b>Submandibular derecha</b>	0.71 (0.68-0.87)	<0.0005	0.58 (0.43-0.73)	<0.0005
<b>Submandibular izquierda</b>	0.73 (0.6-0.84)	<0.0005	0.53 (0.4-0.69)	<0.0005
<b>Parótida derecha</b>	0.79 (0.68-0.87)	<0.0005	0.7 (0.57-0.82)	<0.0005
<b>Parótida izquierda</b>	0.81 (0.71-0.89)	<0.0005	0.58 (0.43-0.73)	<0.0005

En el segundo ejercicio de fiabilidad multi-observador, con 8 observadores, se exploraron 320 GS de 8 pacientes con SSp. Cada exploración duró entre 5 y 10 minutos aproximadamente. La fiabilidad inter-observador de la ecoestructura en modo B fue buena ( $\kappa=0.71-0.75$ ) para las glándulas submandibulares y de buena a excelente ( $\kappa=0.76-0.82$ ) para las glándulas parótidas. Cuando la graduación en modo B se tomó como normal (grados 0 y I) o patológica (grados III y IV) la fiabilidad inter-observador en modo B fue de a buena a excelente ( $\kappa=0.76-0.81$ ) para las glándulas submandibulares y excelente ( $\kappa=0.88-0.89$ ) para las glándulas parótidas (tabla 7).

**Tabla 7. Resultados de fiabilidad ( $\kappa'$  de Light ponderado) inter-observador de la escala semicuantitativa en modo B y modo Doppler entre 8 observadores.**

	Inter-observador Modo B		Inter-observador Modo Doppler	
	$\kappa'$ ponderado (0-1 y 2-3)	$p'$	$\kappa'$ ponderado (0-1 y 2-3)	$p'$
<b>Submandibular derecha</b>	0.75 (0.76-0.82)	<0.0005	0.29 (0.19-0.43)	<0.0005
<b>Submandibular izquierda</b>	0.71 (0.61-0.79)	<0.0005	0.23 (0.11-0.34)	<0.0005
<b>Parótida derecha</b>	0.82 (0.78-0.85)	<0.0005	0.04 (-0.05-0.13)	<0.0005
<b>Parótida izquierda</b>	0.76 (0.71-0.81)	<0.0005	0.03 (-0.07-0.13)	<0.0005

La fiabilidad inter-observador de la vascularización en modo Doppler fue mala ( $\kappa=0.23-0.29$ ) para las glándulas submandibulares y casual ( $\kappa=0.03-0.04$ ) para las glándulas parótidas. Estos resultados han sido presentados en el congreso europeo (EULAR) en 2015 <sup>71</sup> y publicados en la revista *The Journal of Rheumatology* en 2016 <sup>72</sup> (anexo 2).

#### **4.- Asociación entre los hallazgos ecográficos de las GS y las características del SSp**

Se retiraron del análisis 7 pacientes por tratarse de SSp (5 pacientes con LES, 1 paciente con AR y 1 paciente con polimiositis) que cumplieron los criterios de clasificación de cada una de las ERAS descritas después del

inicio del estudio. Los datos demográficos de los 93 pacientes con SSp se recogen en la tabla 8.

**Tabla 8. Datos demográficos de los pacientes con SSp según los hallazgos ecográficos.**

	Total	EGS patológica	EGS normal	<i>p</i>
	<i>n</i> = 93	<i>n</i> = 32	<i>n</i> = 61	
Edad al inicio (media/DE)	49.5	46.6	51	.136
Mujeres <i>n</i> (%)	86 (92.5)	29 (90.6)	57 (93.4)	.625
<b>Duración enfermedad (media)</b>	12.5	14.6	11.1	<b>.021</b>
VSG elevada <i>n</i> (%)	47 (50.5)	16 (50.0)	31 (50.8)	.940
<b>Criterios SSp AECG 2002 (%)</b>	59 (63.44)	31 (96.87)	28 (45.9)	<b>&lt;.001</b>
Linfoma (%)	3 (3.2)	1 (3.1)	2 (3.3)	.968
Tiroiditis autoimmune (%)	27 (29)	7 (21.9)	20 (32.8)	.271
Clínica extra-glandular (%)	76 (81.7%)	28 (87.5)	48 (78.7)	.296
Clínica articular (%)	57 (61.3)	21 (65.6)	36 (59.0)	.534
<b>Tumefacción parotídea (%)</b>	12 (12.9)	8 (25.0)	4 (6.6)	<b>.012</b>

SSp: Síndrome de Sjögren primario; EGS: Ecografía de glándulas salivales; DE: Desviación estándar; VSG: Velocidad de sedimentación globular.

La edad media al diagnóstico fue 49,5 años y el 92,47% (86 pacientes) fueron mujeres. El tiempo de evolución medio de enfermedad fueron 12,5 años (DE 6,8). Presentaban manifestaciones extra-glandulares 76 pacientes (81,72%), y la manifestación más frecuente fue la articular en 57 pacientes (61,3%). La patología concomitante fue la tiroiditis autoinmune (27 pacientes), la presencia de anticuerpos IgG frente al virus de la hepatitis C (3 pacientes) y la cirrosis biliar primaria (2 pacientes).

El patrón típico de SSp (grados II y III) lo presentaron 32 pacientes (34.5%) de los 93 con diagnóstico de SSp. La frecuencia del patrón típico de SSp se incrementó al 52,54% (31 pacientes) cuando se consideraron solo aquellos pacientes que cumplían alguno de los criterios de clasificación AECG 2002/ACR 2012 (59 pacientes). La comparación entre los pacientes con patrón ecográfico típico de SSp y aquellos con EGS normal (tablas 8 y 9) mostró una mayor frecuencia de parotiditis recurrente y un tiempo de evolución de la enfermedad medio más largo en los pacientes con EGS típica de SSp (tabla 8).

La EGS típica de SSp se asoció con la presencia de todos los autoanticuerpos relacionados con el SSp (ANA, FR, anti-Ro-SSA y anti-La-SSB) (tabla 9).

**Tabla 9. Relación de la autoinmunidad de los pacientes con SSp y hallazgos ecográficos de las glándulas salivales.**

	Total	EGS patológica	EGS normal	<i>p</i>
<i>n</i> (%)	<i>n</i> = 93	<i>n</i> = 32	<i>n</i> = 61	
<b>Criterios SSp AECG2002/ACR2012</b>	59 (63.44)	31 (96.87)	28 (45.9)	<b>&lt;.001</b>
<b>Criterios ACR 2012 (ANA y FR +)</b>	46 (49.5)	27 (84.4)	19 (31.1)	<b>&lt;.001</b>
<b>Criterios AECG 2002 (Ro y/o La +)</b>	49 (52.7)	29 (90.6)	20 (32.8)	<b>&lt;.001</b>
<b>Seropositivos completos</b>	36 (38.7)	25 (78.1)	11 (18.0)	<b>&lt;.001</b>
<b>Seropositivos incompletos</b>	44 (47.3)	7 (21.9)	37 (60.7)	<b>&lt;.001</b>
<b>Seronegativos</b>	13 (14)	0	13 (21.3)	<b>&lt;.001</b>
<b>ANA + (n:90)</b>	70 (76.9)	31 (96.9)	39 (66.1)	<b>.001</b>
<b>FR + (n:92)</b>	55 (59.1)	28 (87.5)	27 (44.3)	<b>&lt;.001</b>
<b>Anti-Ro + (n:86)</b>	46 (52.9)	27 (84.4)	19 (34.5)	<b>&lt;.001</b>
<b>Anti-La + (n:86)</b>	28 (33.3)	19 (63.3)	9 (16.7)	<b>&lt;.001</b>

SSp: Síndrome de Sjögren primario; EGS: Ecografía de glándulas salivales; DE: Desviación estándar; ANA: Anticuerpos antinucleares; FR: Factor reumatoide; VSG: Velocidad de sedimentación globular; ENA: Anticuerpos extraíbles del núcleo.

El grupo seropositivo completo se asoció con mayor frecuencia de EGS patológica. Los pacientes con autoinmunidad negativa se asociaron con una EGS normal (grado 0). Ninguno de los pacientes seronegativos tuvo alteraciones en la EGS ni cumplieron criterios de clasificación de SSp (AECG 2002 o ACR 2012).

La comparación entre los pacientes que cumplían alguno de los criterios diagnósticos (AECG 2002 o ACR 2012) con aquellos pacientes que no cumplieron se muestra en la tabla 10.

**Tabla 10. Datos demográficos de los pacientes con síndrome de Sjögren primario, divididos en dos grupos según los criterios de clasificación (AECG 2002/ACR 2012).**

	<b>Total</b>	<b>Criterios SSp</b>	<b>No criterios</b>	<b>p</b>
	<b>n = 93</b>	<b>n = 59</b>	<b>n = 34</b>	
Edad al inicio (media/DE)	49.52	48.48	51.34	.331
Mujer n (%)	86 (92.5)	53 (89.8)	33 (97.1)	.203
Duración enfermedad (media)	12.34	12.48	12.09	.793
VSG elevada (media)	47 (50.5)	31 (52.5)	16 (47.1)	.610
<b>SSp con EGS patológica (grados 2 y 3) n (%)</b>	32 (34.5)	31 (52.5)	1 (2.9)	<b>&lt;.001</b>
Linfoma	3 (3.2)	2 (3.4)	1 (2.9%)	.906
Tiroiditis autoinmune	27 (29)	14 (23.7)	13 (38.2)	.138
Clínica extra-glandular	76 (81.7%)	49 (83.1)	27 (79.4)	.662
Parotiditis recurrente	12 (12.9)	9 (15.3)	3 (8.8)	.373

SSp: Síndrome de Sjögren primario; EGS: Ecografía de glándulas salivales; DE: Desviación estándar; VSG: Velocidad de sedimentación globular.

Cuando comparamos los pacientes que cumplen los criterios de clasificación AECG 2002 con los pacientes que cumplen los criterios de

clasificación ACR de 2012, según los anticuerpos positivos (grupos 1 y grupo 2), con 46 y 49 pacientes por grupo respectivamente, no hubo diferencias estadísticas entre ellos; la ecografía típica de SSp la presentaron 27 y 29 pacientes respectivamente (tabla 9).

De los 93 pacientes con SSp, 76 pacientes (81,7%) tenían afectación extra-glandular, y de ellos 28 (36,8%) pacientes tenían EGS patológica; de los 17 pacientes (18,2%) sin afectación extra-glandular, 4 pacientes (23,5%) tuvieron una EGS patológica (tabla 8). La afectación extra-glandular fue igual de frecuente en el grupo de pacientes que cumplían los criterios de clasificación (AECG 2002/ACR2012) y en el grupo de pacientes que no los cumplían (tabla 10). La EGS típica de SSp no se asoció con mayores frecuencias de manifestaciones extra-glandulares ni mayor prevalencia de linfomas (Tabla 11).

Tabla 11. Clínica extra-glandular de los pacientes con SSp, divididos en dos grupos según la ecografía de glándulas salivales.

	<b>Total</b>	<b>EGS patológica</b>	<b>EGS normal</b>	<b>p</b>
	<b>n = 93</b>	<b>n = 32</b>	<b>n = 61</b>	
Clínica extra-glandular n(%)	76 (81.7%)	28 (87.5%)	48 (78.7%)	.446
Clínica articular n(%)	57 (61.3%)	21 (65.6%)	36 (59.0%)	.691
Cutánea n(%)	26 (28.0%)	9 (28.1%)	17 (27.9%)	1.000
Pulmonar n(%)	1 (1.1%)	0	1 (1.6%)	1.000
Renal n(%)	1 (1.1%)	0	1 (1.6%)	1.000
Neurológica n(%)	12 (12.9%)	5 (15.6%)	7 (11.5%)	.809
Hematológica n(%)	33 (35.5%)	12 (37.5%)	21 (34.4%)	.947
Linfoma (%)	3 (3.2)	1 (3.1)	2 (3.3)	.968

EGS: Ecografía de glándulas salivales.



## **DISCUSIÓN**

## DISCUSIÓN

La EGS es una técnica de imagen útil en la evaluación de las GS en múltiples patologías. La descripción del aspecto ecográfico de las GS normales y del aspecto ecográfico en el SSp, publicado en revistas de radiología, es similar a nuestra descripción <sup>39, 40</sup>. Las GS normales en modo B se describen como “estructuras de ecogenicidad homogénea e hiperecólica con respecto a los músculos adyacentes, con el conducto de Stenon, lineal e hipoecólico, visible o no en las glándulas parótidas, pudiendo encontrar ganglios linfáticos intra-parenquimatosos, frecuentes en el polo superior e inferior de las glándulas parótidas” <sup>39, 40</sup>. Tanto en este estudio como en los publicados previamente, la característica ecográfica principal de las GS normales es la homogeneidad. El aspecto ecográfico en modo B de las GS en el SSp también es parecido a nuestra descripción, y se ha descrito como la pérdida de la homogeneidad de las GS “con múltiples áreas ovals hipo- o anecoicas distribuidas de forma difusa, habitualmente bien definidas” <sup>39, 40</sup>.

En la literatura científica se han utilizado varias escalas diferentes de graduación de las GS en el SSp, todas ellas semicuantitativas. La escala

de graduación más sencilla tiene 3 grados (0-2), siendo el grado 0 la ecoestructura normal, el grado I una pérdida leve de homogeneidad glandular y el grado II una pérdida evidente de la homogeneidad glandular <sup>47, 52</sup>. La escala de graduación más compleja tiene 5 grados (0-4), siendo el grado 0 la normalidad glandular (por tanto, una glándula homogénea) y el grado IV el de máxima pérdida de homogeneidad glandular. Los grados I al III se diferencian según el tamaño y el número de las áreas hipo- o anecoicas del parénquima glandular <sup>44, 50, 72</sup>. Sin embargo, la escala de graduación utilizada más frecuentemente es la escala semicuantitativa de 4 grados (0-3), con una definición de los diferentes grados muy similar a nuestra escala de graduación desarrollada <sup>43, 46-49, 51, 54, 72</sup>. En los estudios que utilizan la escala semicuantitativa de 4 grados (0-3), al igual que en nuestro estudio, se consideran los grados 0 y 1 como normales y los grados 2 y 3 como patológicos tanto en las glándulas submandibulares como en las glándulas parótidas, excepto en el estudio de De Vita y col, quienes consideraron el grado 1 también patológico en las glándulas parótidas<sup>43</sup>.

La fiabilidad de la escala ecográfica de graduación se calculó mediante el Kappa ( $k$ ), un análisis estadístico que mide el acuerdo entre observadores más allá del puro azar <sup>73</sup>. La fiabilidad intra-observador

de forma ponderada de la ecoestructura en modo B fue buena tanto para las glándulas submandibulares ( $\kappa$  0,664) como para las glándulas parótidas ( $\kappa$  0,911). El único estudio que aporta información sobre la fiabilidad intra-observador presenta también unos resultados excelentes ( $\kappa$  0,852)<sup>45</sup>. Sin embargo, la fiabilidad intra-observador del estudio de Salaffi y colaboradores se calculó con respecto a la graduación dicotómica de las GS (normalidad vs patología), mientras que en nuestro estudio se obtuvo la fiabilidad de la escala de graduación semicuantitativa (0-3), de forma ponderada <sup>52</sup>. Pese a esta diferencia en la forma de calcular la fiabilidad los buenos resultados en ambos casos apoyan una excelente fiabilidad, especialmente para las glándulas parótidas.

La fiabilidad inter-observador de la ecoestructura (graduación de 0 a 3) en modo B de nuestro estudio fue buena o excelente para 2 ( $\kappa$  ponderado 0,642-0,91), 5 ( $\kappa$  ponderado 0,71-0,81) y 8 observadores ( $\kappa$  ponderado 0,71-0,82) con distinta experiencia en la realización de la EGS entre ellos. Nuestros resultados difieren ligeramente de la fiabilidad publicada en la literatura, donde la fiabilidad inter-observador fue excelente ( $\kappa$  >0,8) en la mayoría de ellos, sobre todo cuando se evaluó de forma dicotómica (normal vs patológico)

independientemente de la escala de graduación utilizada ( $\kappa=0.95$  para la escala de 3 grados,  $\kappa=0.81-0.83$  para la escala de 4 grados y  $\kappa=0.83-0.93$  para la escala de 5 grados <sup>43-48</sup>. El estudio de Hammenfors y col. calculó el acuerdo de una escala semicuantitativa de 0 a 3 entre 2 observadores, obteniendo una fiabilidad inter-observador buena ( $k$  0,697), muy parecida a nuestros resultados; sin embargo, en el estudio de Theander y col. la fiabilidad fue excelente tanto para la escala semicuantitativa de 0 a 3 ( $k$  0,83) como para la evaluación dicotómica ( $k$  0,89). Pese a los buenos resultados de la fiabilidad inter-observador en modo B en los estudios publicados, la heterogeneidad en la escala de graduación utilizada y la diferente utilización, o falta de información, del  $\kappa$  calculado (dicotómico vs semicuantitativo), hacen que la fiabilidad de la EGS siga siendo controvertida <sup>65-67</sup>.

La fiabilidad intra-observador e inter-observador en modo B entre la graduación de las glándulas submandibulares y las glándulas parótidas fue mayor para las glándulas parótidas en todos los ejercicios de fiabilidad realizados en nuestro estudio. Las glándulas parótidas presentan un aspecto más homogéneo que las glándulas submandibulares en controles sanos <sup>40</sup>, siendo más sencillo detectar alteraciones del parénquima glandular en las glándulas parótidas. Las

glándulas submandibulares presentan con mayor frecuencia alteraciones leves del parénquima glandular, quizá por mayor infiltración de grasa en las mismas, como se ha descrito con anterioridad <sup>40, 47, 52</sup>. Quizá debido a este motivo, y como ya hemos comentado, el estudio de De Vita y col. consideraron patológicos los grados 1 o superior en las glándulas parótidas, mientras que consideró patológicos los grados 2 y 3 en las glándulas submandibulares <sup>43</sup>.

La fiabilidad inter-observador en modo Doppler fue aceptable o buena, pero menor a la obtenida en modo B, en el primer ejercicio de fiabilidad multi-observador, y muy mala en el segundo <sup>72</sup>. Esta diferencia puede deberse a los distintos parámetros ecográficos utilizados en el modo Doppler en ambos ejercicios de fiabilidad, con un PRF más alto en el segundo ejercicio. El PRF mayor nos permite delimitar con mayor precisión los vasos de mediano y gran tamaño (por ejemplo, vena y arteria faciales), pero no detectamos aquellos vasos más pequeños, con flujos más lentos, que son más abundantes en las GS. Por ello, la gran mayoría de las graduaciones en modo Doppler del segundo ejercicio de fiabilidad fueron bajas (grados 0 y 1), lo que limita el poder estadístico del *k*. No existe información publicada sobre la fiabilidad con relación al modo Doppler, y por tanto, debido a la dificultad para estandarizar la

exploración ecográfica en modo Doppler de las GS, no es aconsejable utilizarlo actualmente en la evaluación de pacientes con SSp <sup>78</sup>.

La exploración y la graduación de las GS con nuestra escala es rápida de aprender y de realizar para especialistas con experiencia previa en ecografía musculo-esquelética, como se muestra en el segundo estudio de fiabilidad, donde 6 reumatólogos sin experiencia en EGS, obtuvieron una buena fiabilidad inter-observador con un aprendizaje previo corto (2 horas) <sup>72</sup>.

La asociación de las alteraciones ecográficas típicas de SSp con un mayor riesgo de linfoma y de afectación extra-glandular se ha sugerido en algunos estudios <sup>46,52</sup>. En el estudio de Theander y col. <sup>46</sup> los pacientes con una EGS patológica (típica de SSp) tuvieron una mayor frecuencia de linfomas y de afectación extra-glandular, sugiriendo un posible papel pronóstico de la EGS <sup>46</sup>. Por otra parte, el estudio de Makula y col. <sup>52</sup>, donde todos los pacientes con SSp incluidos tenían afectación extra-glandular, la frecuencia de una EGS patológica fue muy elevada (83,9%), apoyando esta posible asociación. Lamentablemente, otros estudios publicados con una alta prevalencia de alteraciones ecográficas de las GS en pacientes con SSp, como el estudio de Milic y col <sup>50</sup> (92,1%), y el

estudio de De Vita y col <sup>43</sup> (88,8%) no aportan información sobre la afectación extra-glandular de los pacientes incluidos, lo que podría haber apoyado esta relación entre las ecografía de GS patológica en el SSp y la afectación extra-glandular. En nuestro estudio, no hay asociación entre la prevalencia de linfoma o de afectación extra-glandular con las alteraciones ecográficas. Esto puede explicarse en parte a que nuestra población presenta una baja prevalencia de linfomas (3%) en comparación con la prevalencia publicada (5%) <sup>1</sup>, aunque la afectación extra-glandular es comparable a otras series publicadas independientemente de la EGS. Además, la afectación extra-glandular también fue comparable entre los pacientes que cumplieron los criterios de clasificación AECG 2002/ACR 2012 y los pacientes que no los cumplieron.

Las únicas asociaciones entre la clínica y la ecografía patológica en nuestro estudio fueron con la tumefacción parotídea y el tiempo de evolución medio de la enfermedad (tabla 8). Estos resultados podrían sugerir que una mayor inflamación clínica de las GS se asocia con una mayor destrucción glandular y por lo tanto con mayores alteraciones detectables por ecografía. El tiempo de evolución de la enfermedad puede tener relación con la mayor destrucción glandular, aunque el



tiempo medio de evolución del grupo de pacientes con EGS normal también era mayor a 10 años (14.6 años vs 11.1 años). Por otra parte, la diferencia entre ambos grupos de pacientes podría deberse a una mayor infiltración grasa fisiológica debido a la edad, aunque en nuestro estudio la edad media en ambos grupos era similar (46,1 vs 51 años de edad).

La asociación entre las alteraciones ecográficas de las GS en el SSp y la detección de autoanticuerpos en nuestro estudio, coincide con otros estudios publicados, principalmente con los anticuerpos anti-Ro-SSA y anti-La-SSB <sup>46, 47, 49, 54</sup>, pero también con los ANA, el FR y la hipergammaglobulinemia <sup>43, 46, 49, 52</sup>. La novedad de nuestro estudio es que las alteraciones ecográficas son más frecuentes cuantos más autoanticuerpos positivos presenta el paciente. La frecuencia de las alteraciones ecográficas de las GS es mayor cuando el paciente tiene positivos de forma simultánea o secuencial el FR, los ANA y los anticuerpos anti-Ro-SSA y/o anti-La-SSB. Por el contrario, la negatividad de los autoanticuerpos se podría asociar con una EGS normal, como sugiere el hecho de que ninguno de los pacientes sin autoanticuerpos tuviera una EGS patológica. Por tanto, es posible que en los pacientes con todos los autoanticuerpos positivos, la probabilidad de presentar una EGS alterada sea mayor. Si no presenta autoinmunidad,

probablemente tampoco presentará alteraciones ecográficas, y viceversa.

La EGS ha mostrado tener una sensibilidad y una especificidad similares a la biopsia en algunos estudios, y recientemente se ha descrito la asociación entre la EGS típica de SSp y la biopsia positiva <sup>76</sup>. En este estudio transversal en pacientes con SSp, la mayoría de los pacientes con EGS patológica presentaron una biopsia positiva <sup>76</sup>. por lo que algunos autores sugieren que las biopsias de GS menores podrían evitarse en el futuro <sup>62</sup>. Esta opción es controvertida y aún no ha sido aceptada mayoritariamente. Los resultados de nuestro estudio sugieren que la EGS, junto con la autoinmunidad, podría ser de utilidad para confirmar el diagnóstico en algunos pacientes, evitando la realización de pruebas invasivas como gammagrafía o biopsia de GS, como ya han propuesto otros autores <sup>62, 67, 68</sup>.

Nuestro estudio tiene varias limitaciones. Los pacientes con diagnóstico de SSp han sido seleccionados retrospectivamente de un registro, al igual que los datos clínicos, demográficos y de laboratorio, con los sesgos que eso representa. Otra limitación de nuestro estudio es la ausencia de biopsia de GS menores en los pacientes con SSp debido a

problemas técnicos y a la baja rentabilidad diagnóstica de una prueba, por otra parte, invasiva, lo que determina que en nuestro centro se limite la realización de biopsias de GS menores a casos seleccionados. Esto supone que todos aquellos pacientes que cumplen los criterios de clasificación AECG 2002/ACR 2012 en nuestra muestra (59 pacientes) lo hacen cumpliendo el ítem obligatorio de autoinmunidad. De los 13 pacientes sin autoanticuerpos diagnosticados de SSp ninguno presentó alteraciones en la EGS y es posible que estos pacientes sean los candidatos idóneos para la biopsia de GS menores con el objetivo de confirmar el diagnóstico.

## **CONCLUSIONES**

## **Conclusiones**

- 1.- Las GS normales son estructuras homogéneas e hiperecóicas con respecto a los músculos y la pérdida de la homogeneidad es la característica ecográfica más relevante en el SSp.
- 2.- La escala ecográfica de graduación semicuantitativa en modo B de 4 grados desarrollada tiene una buena fiabilidad inter e intra-observador.
- 3.- El patrón ecográfico típico del SSp se asocia con una mayor presencia de autoanticuerpos, un mayor tiempo de evolución de la enfermedad y mayor frecuencia de tumefacción parotídea.

## **BIBLIOGRAFÍA**

## Bibliografia

- 1.- E. William ST. Clair. Sjögren's syndrome. Chapter 73; Kelley textbook 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2013. p. 1169-1191.e4.
- 2.- Nocturne G, Mariette X. Advances in understanding the pathogenesis of primary Sjögren's syndrome. *Nat Rev Rheumatol*. 2013;9:544-56.
- 3.- Pers JO, Youinou P. Are the B cells cast with the leading part in the Sjögren's syndrome scenario? *Oral Dis*. 2014;20:529-37.
- 4.- Mikulicz J: Über eine eigenartige symmetrische Erkrankung der tranen und mundspeicheldrüsen, *Beitr. Z. Chir. Festschr. F. Theodor Billroth*, Stuttgart, Germany 1892; pp 610–630.
- 5.- Sjögren H: Zur Kenntnis der keratoconjunctivitis sicca, *Acta Ophthalmol*. 1933;(Suppl 2):1–151.
- 6.- Ramos-Casals M, Solans R, Rosas J, Camps MT, Gil A, Del Pino-Montes J, et al. for GEMESS Study Group. Primary Sjögren syndrome in Spain: clinical and immunologic expression in 1010 patients. *Medicine (Baltimore)*. 2008;87:210-9.
- 7.- Alamanos Y, Tsifetaki N, Voulgari PV, Venetsanopoulou AI, Siozos C, Drosos AA. Epidemiology of primary Sjögren's syndrome in north-west Greece, 1982-2003. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45: 187-91.
- 8.- Ng WF, Bowman SJ. Primary Sjögren's syndrome: too dry and too tired. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49:844-53.
- 9.- Jorgensen C, Legouffe MC, Perney P, Coste J, Tissot B, Segarra C, et al. Sicca syndrome associated with hepatitis C virus infection. *Arthritis Rheum*. 1996;39:1166-71.
- 10.- Vitali C, Moutsopoulos HM, Bombardieri S. The European Community Study Group on diagnostic criteria for Sjögren's syndrome. Sensitivity and specificity of tests for ocular and oral involvement in

Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 1994;53:637-47

11.- Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, Balestrieri G, Bencivelli W, Bernstein RM, et al. Preliminary criteria for the classification of Sjögren's syndrome. Results of a prospective concerted action supported by the European Community. *Arthritis Rheum*. 1993;36:340-7

12.- Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis*. 2002;61:554-8.

13.- Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell L, Baer A, Challacombe S, Lanfranchi H, et al. Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance (SICCA) Research Groups. American College of Rheumatology classification criteria for Sjögren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance cohort. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64:475-87.

14.- Schall GL, Larson SM, Anderson LG, Griffith JM. Quantification of parotid gland uptake of pertechnetate using a gamma scintillation camera and a "region-of-interest" system. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med*. 1972;115:689-97.

15.- Hermans P, Hausler R, Vischer TL. Differential diagnosis between Gougerot-Sjögren syndrome and sialadenosis using quantitative scintigraphy of the salivary glands. *Rev Rhum Mal Osteoartic*. 1977;44:99-103.

16.- Kim HA, Yoon SH, Yoon JK, Lee SJ, Jo KS, Lee DH, et al. Salivary gland scintigraphy in Sjögren's syndrome. Comparison of the diagnostic performance of visual and semiquantitative analysis. *Nuklearmedizin*. 2014;53:139-45.



- 17.- Jadu FM, Hill ML, Yaffe MJ, Lam EW. Optimization of exposure parameters for cone beam computed tomography sialography. *Dentomaxillofac Radiol.* 2011;40:362-8.
- 18.- Chisholm DM, Mason DK. Labial salivary glands biopsy in Sjögren's syndrome. *J Clin Pathol.* 1968;21:656-60.
- 19.- Tavoni AG, Baldini C, Bencivelli W, Cavazzini L, Covelli M, De Vita S, et al; Italian Study Group on Sjögren's Syndrome of the Italian Society of Rheumatology. Minor salivary gland biopsy and Sjögren's syndrome: comparative analysis of biopsies among different Italian rheumatologic centers. *Clin Exp Rheumatol.* 2012;30:929-33.
- 20.- Brito-Zerón P, Ramos-Casals M; EULAR-SS task force group. Advances in the understanding and treatment of systemic complications in Sjögren's syndrome. *Curr Opin Rheumatol.* 2014;26:520-7.
- 21.- Skopouli FN, Dafni U, Ioannidis JP, Moutsopoulos HM. Clinical evolution, and morbidity and mortality of primary Sjögren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 2000;29:296-304.
- 22.- Santiago ML, Seisdedos MR, Garcia-Salinas RN, Catalán Pellet A, Villalón L, et al. Usefulness of antibodies and minor salivary gland biopsy in the study of sicca syndrome in daily clinical practice. *Reumatol Clin.* 2015;11:156-60.
- 23.- López-Longo FJ, Rodríguez-Mahou M, Escalona M, Pérez T, Monteagudo I, Sánchez-Atrio AI, et al. Heterogeneity of the anti-Ro (SS-A) response in rheumatic diseases. *J Rheumatol* 1994;21:1450-6.
- 24.- López-Longo FJ, Monteagudo I, González CM, Grau R, Carreño L. Systemic lupus erythematosus: clinical expression and anti-Ro/SS-A response in patients with and without lesions of subacute cutaneous lupus erythematosus. *Lupus* 1997;6:32-9.
- 25.- De Andrés C, Guillem A, Rodríguez-Mahou M, López-Longo FJ.

Frequency and significance of positive anti-Ro (SS-A) serum antibodies in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 2001;104:83-7.

26.- López-Longo FJ, Rodríguez-Mahou M, Escalona M, González CM, Monteagudo I, Carreño L. Simultaneous identification of various antinuclear antibodies using an automated multiparameter line immunoassay system. *Lupus* 2003;12:623-9.

27.- Pego-Reigosa JM, Rúa-Figueroa Í, López-Longo FJ, Galindo-Izquierdo M, Calvo-Alén J, Olivé-Marqués A, et al; on behalf of the RELESSER Group, from the Spanish Society of Rheumatology Systemic Autoimmune Diseases Study Group (EASSER). Analysis of disease activity and response to treatment in a large Spanish cohort of patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2015;24:720-9.

28.- Martínez-Barrio J, Ovalles-Bonilla JG, López-Longo FJ, González CM, Montoro M, Valor L, et al. Juvenile, adult and late-onset systemic lupus erythematosus: A long-term follow-up study from a geographic and ethnically homogeneous population. *Clin Exp Rheumatol* 2015;33:788-94.

29.- Frank MB, Itoh K, Fujisaku A, Pontarotti P, Mattei MG, Neas BR. Mar 1993). The mapping of the human 52-kD Ro/SSA autoantigen gene to human chromosome 11, and its polymorphisms. *Am J Hum Genet*. 1993;52:183-91.

30.- Entrez Gene: TRIM21 tripartite motif-containing 21

31.- Ghillani P, André C, Toly C, Rouquette AM, Bengoufa D, Nicaise P, et al. Clinical significance of anti-Ro52 (TRIM21) antibodies non-associated with anti-SSA 60kDa antibodies: results of a multicentric study. *Autoimmun Rev*. 2011;10:509-13.

32.- Oke V, Wahren-Herlenius M. The immunobiology of Ro52 (TRIM21) in autoimmunity: a critical review. *J Autoimmun*. 2012;39:77-82.

- 33.- Jawahar Swaminathan and MSD staff at the European Bioinformatics Institute <http://www.ebi.ac.uk>
- 34.- Bootsma H, Spijkervet FK, Kroese FG, Vissink A. Toward new classification criteria for Sjögren's syndrome? [editorial]. *Arthritis Rheum* 2013;65:21-3.
- 35.- Iagnocco A, Naredo E, Bijlsma JW. Becoming a musculoskeletal ultrasonographer. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2013;27:271-81.
- 36.- Berghout A, Wiersinga WM, Smits NJ, Touber JL. The value of thyroid volumen measured by ultrasonography in the diagnosis of goitre. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1988;28:409-14.
- 37.- Benker G, Olbricht T, Windeck R, Wagner R, Albers H, Lederbogen S, et al. The sonographical and functional sequelae of de Quervain's subacute thyroiditis: long-term follow-up. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1988;117:435-41.
- 38.- Baker S, Ossoinig KC. Ultrasonic evaluation of salivary glands. *Trans Sect Otolaryngol Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*. 1977;84:750-62.
- 39.- Bialek EJ, Jakubowski W, Zajkowski P, Szopinski KT, Osmolski A. US of the major salivary glands: anatomy and spatial relationships, pathologic conditions, and pitfalls. *Radiographics*. 2006; 26: 745-63.
40. Zengel P, Schröitzlmair F, Reichel C, Paprottka P, Clevert DA. Sonography: the leading diagnostic tool for diseases of the salivary glands. *Semin Ultrasound CT MR*. 2013;34:196-203.
- 41.- Bradus RJ, Hybarger P, Gooding GA. Parotid gland: US findings in Sjögren syndrome. Work in progress. *Radiology*. 1988;169:749-51.
- 42.- De Clerck LS, Corthouts R, Francx L, Brussaard C, de Schepper A, Vercruysse HA, et al. Ultrasonography and computer tomography of the salivary glands in the evaluation of Sjögren's syndrome. Comparison with parotid sialography. *J Rheumatol*. 1988;15:1777-81.

- 43.- De Vita S, Lorenzon G, Rossi G, Sabella M, Fossaluzza V. Salivary gland echography in primary and secondary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 1992;10:351-6.
- 44.- Salaffi F, Argalia G, Carotti M, Giannini FB, Palombi C. Salivary gland ultrasonography in the evaluation of primary Sjögren's syndrome. Comparison with minor salivary gland biopsy. *J Rheumatol*. 2000;27:1229-36.
- 45.- Salaffi F, Carotti M, Iagnocco A, Luccioli F, Ramonda R, Sabatini E, et al. Ultrasonography of salivary glands in primary Sjögren's syndrome: a comparison with contrast sialography and scintigraphy. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47:1244-9.
- 46.- Theander E, Mandl T. Primary Sjögren's syndrome: diagnostic and prognostic value of salivary gland ultrasonography using a simplified scoring system. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2014;66:1102-7.
- 47.- Wernicke D, Hess H, Gromnica-Ihle E, Krause A, Schmidt WA. Ultrasonography of salivary glands: a highly specific imaging procedure for diagnosis of Sjögren's syndrome. *J Rheumatol*. 2008;35:285-93.
- 48.- Takagi Y, Kimura Y, Nakamura H, Sasaki M, Eguchi K, Nakamura T. Salivary gland ultrasonography: can it be an alternative to sialography as an imaging modality for Sjögren's syndrome? *Ann Rheum Dis*. 2010;69:1321-4.
- 49.- Hocevar A, Ambrozic A, Rozman B, Kveder T, Tomsic M. Ultrasonographic changes of major salivary glands in primary Sjögren's syndrome: diagnostic value of a novel scoring system. *Rheumatology (Oxford)*. 2005;44:768-72.
- 50.- Milic VD, Petrovic RR, Boricic IV, Marinkovic-Eric J, Radunovic GL, Jeremic PD, et al. Diagnostic value of salivary gland ultrasonographic scoring system in primary Sjogren's syndrome: a comparison with

scintigraphy and biopsy. *J Rheumatol*. 2009;36:1495-500.

51.- Luciano N, Baldini C, Tarantini G, Ferro F, Sernissi F, Varanini V, et al. Ultrasonography of major salivary glands: a highly specific tool for distinguishing primary Sjögren's syndrome from undifferentiated connective tissue diseases. *Rheumatology (Oxford)*. 2015;54:2198-204.

52.- Makula E, Pokorny G, Rajtár M, Kiss I, Kovács A, Kovács L. Parotid gland ultrasonography as a diagnostic tool in primary Sjögren's syndrome. *Br J Rheumatol*. 1996;35:972-7.

53.- Kawamura H, Taniguchi N, Itoh K, Kano S. Salivary gland echography in patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*. 1990;33:505-10.

54.- Hammenfors DS, Brun JG, Jonsson R, Jonsson MV. Diagnostic utility of major salivary gland ultrasonography in primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 2015;33:56-62.

55.- Wernicke D, Hess H, Gromnica-Ihle E, Krause A, Schmidt WA. Ultrasonography of salivary glands - a highly specific imaging procedure for diagnosis of Sjögren's syndrome. *J Rheumatol*. 2008;35:285-93.

56.- Baldini C, Luciano N, Tarantini G, Pascale R, Sernissi F, Mosca M, et al. Salivary gland ultrasonography: a highly specific tool for the early diagnosis of primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Res Ther*. 2015;17:146.

57.- Zhang X, Zhang S, He J, Hu F, Liu H, Li J, et al. Ultrasonographic evaluation of major salivary glands in primary Sjögren's syndrome: comparison of two scoring systems. *Rheumatology (Oxford)*. 2015;54:1680-7.

58.- Goules AV, Tzioufas AG. Imaging: diagnostic value of ultrasonography in Sjögren's syndrome. *Nat Rev Rheumatol*. 2014;10:450-2.

- 59.- Delli K, Dijkstra PU, Stel AJ, Bootsma H, Vissink A, Spijkervet F. Diagnostic properties of ultrasound of major salivary glands in Sjögren's syndrome: a meta-analysis. *Oral Dis.* 2015;21:792-800.
- 60.- Nakashima Y, Nakamura H, Horai Y, Hayashi T, Takagi Y, Nakamura T, et al. Comorbid case of IgG4-related disease and primary Sjögren's syndrome. *Mod Rheumatol.* 2015;25:462-7.
- 61.- Milic VD, Petrovic RR, Boricic IV, Radunovic GL, Pejnovic NN, Soldatovic I, et al. Major salivary gland sonography in Sjögren's syndrome: diagnostic value of a novel ultrasonography score (0-12) for parenchymal inhomogeneity. *Scand J Rheumatol.* 2010;39:160-6.
- 62.- Takagi Y, Sumi M, Nakamura H, Iwamoto N, Horai Y, Kawakami A, et al. Ultrasonography as an additional item in the American College of Rheumatology classification of Sjögren's syndrome. *Rheumatology (Oxford).* 2014;53:1977-83.
- 63.- Cornec D, Jousse-Joulin S, Pers JO, Marhadour T, Cochener B, Boisramé-Gastrin S, et al. Contribution of salivary gland ultrasonography to the diagnosis of Sjögren's syndrome: toward new diagnostic criteria? *Arthritis Rheum.* 2013;65:216-25.
- 64.- Milic V, Petrovic R, Boricic I, Radunovic G, Marinkovic- Eric J, Jeremic P, et al. Ultrasonography of major salivary glands could be an alternative tool to sialoscintigraphy in the American-European classification criteria for primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2012;51:1081-5.
- 65.- Jonsson MV, Baldini C. Major Salivary Gland Ultrasonography in the Diagnosis of Sjögren's Syndrome: A Place in the Diagnostic Criteria? *Rheum Dis Clin North Am.* 2016;42:501-17.
- 66.- Baldini C, Luciano N, Mosca M, Bombardieri S. Salivary Gland Ultrasonography in Sjögren's Syndrome: Clinical Usefulness and Future

- Perspectives. *Isr Med Assoc J*. 2016;18:193-6.
- 67.- Jousse-Joulin S, Milic V, Jonsson MV, Plagou A, Theander E, Luciano N, et al; US-pSS Study Group. Is salivary gland ultrasonography a useful tool in Sjögren's syndrome? A systematic review. *Rheumatology (Oxford)*. 2016;55:789-800
- 68.- Cornec D, Devauchelle-Pensec V, Saraux A, Jousse-Joulin S. Clinical usefulness of salivary gland ultrasonography in Sjögren's syndrome: Where are we now?. *Rev Med Interne*. 2016;37:186-94.
- 69.- Das S, Huynh D, Yang H, Ceponis A, Kavanaugh A. Salivary Gland Ultrasonography as a Diagnostic Tool for Secondary Sjögren Syndrome in Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol*. 2015;42:1119-22.
- 70.- Cornec D, Jousse-Joulin S, Saraux A, Devauchelle-Pensec V. Salivary gland ultrasound to diagnose Sjögren's syndrome: a claim to standardize the procedure. *Rheumatology (Oxford)*. 2015;54:199-200.
- 71.- Milic VD, Naredo E, Nieto JC, Carreño L, Marinkovic-Eric J, Damjanov N. Inter-observer agreement in ultrasonography assessment of parenchymal inhomogeneity salivary glands in suspected primary Sjogren's syndrome. AB0557, EULAR 2014
- 72.- Damjanov N, Milic V, Nieto-González JC, Janta I, Martínez-Estupiñan L, Serrano B, et al. Multiobserver Reliability of Ultrasound Assessment of Salivary Glands in Patients with Established Primary Sjögren Syndrome. *J Rheumatol*. 2016;43:1858-63.
- 73.- Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ Psychol Meas* 1960;20:37-46.
- 74.- Cohen, J. Multiple regression as a general data- analytic system, *Psychological Bulletin* 1968;70,426-443.
- 75.- R. L. Spitzer, J. Cohen, J. L. Fleiss, and J. Endicott, "Quantification of agreement in psychiatric diagnosis. A new approach," *Archives of*

General Psychiatry, vol. 17, no. 1, pp. 83–87, 1967.

76.- Landis J.R., Koch G.G. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977;33:159-174.

77.- Astorri E, Sutcliffe N, Richards PS, Suchak K, Pitzalis C, Bombardieri M, et al. Ultrasound of the salivary glands is a strong predictor of labial gland biopsy histopathology in patients with sicca symptoms. *J Oral Pathol Med.*2016;45:450-4.

78.- Jousse-Joulin S, Devauchelle-Pensec V, Cornec D, Marhadour T, Bressollette L, Gestin S, et al. Ultrasonographic assessment of salivary gland response to rituximab in primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheumatol.* 2015;67:1623-8.



## **ANEXOS**

## **Anexo 1**

### **Hoja de recogida de datos de sujetos sanos**

- **Nombre:**
- **Edad:**
- **Género:**
- **Tiene alguna enfermedad autoinmune: No \_\_ ; Sí \_\_**
- **Tiene alguna enfermedad infecciosa: No \_\_ ; Sí \_\_**

**En caso de responder sí, ¿Cuál/es? \_\_\_\_\_**

- **Enfermedades tiroideas: No \_\_ ; Sí \_\_\_\_\_**
- **Toma usted algún fármaco: No \_\_ ; Sí \_\_**

**En caso de responder sí, ¿Cuál/es? \_\_\_\_\_**

- **Parotiditis frecuentes: No \_\_ ; Sí \_\_**

**Si ha respondido `No´ a las preguntas previas, responder a:**

- **¿Tiene sequedad ocular habitual? No \_\_ ; Sí \_\_**
- **¿Tiene sequedad bucal habitual? No \_\_ ; Sí \_\_**

## Anexo 2.

# The Journal of Rheumatology

## The Journal of Rheumatology

### Multiobserver Reliability of Ultrasound Assessment of Salivary Glands in Patients with Established Primary Sjögren Syndrome

Nemanja Damjanov, Vera Milic, Juan Carlos Nieto-González, Iustina Janta, Lina Martínez-Estupiñan, Belén Serrano, Carmen Mata, María Montoro, Denisa Stanciu, Jelena Marinkovic-Eric, Francisco Javier López-Longo, Luis Carreño and Esperanza Naredo

DOI: 10.3899/jrheum.151220

<http://www.jrheum.org/content/early/2016/08/08/jrheum.151220>

1. Sign up for our monthly e-table of contents  
<http://www.jrheum.org/cgi/alerts/etoc>
2. Information on Subscriptions  
<http://jrheum.com/subscribe.html>
3. Have us contact your library about access options  
[Refer\\_your\\_library@jrheum.com](mailto:Refer_your_library@jrheum.com)
4. Information on permissions/orders of reprints  
<http://jrheum.com/reprints.html>

*The Journal of Rheumatology* is a monthly international serial edited by Earl D. Silverman featuring research articles on clinical subjects from scientists working in rheumatology and related fields.